

Travail du laboratoire de M. le Professeur P. Courmont
à l'Institut bactériologique et de son Service à l'Hôtel-Dieu

Action Bactéricide
des
Liquides pleuraux Tuberculeux
(*Pleurésie Séro-Fibrineuse et Hydro-Pneumothorax*)
sur les cultures homogènes
de Bacille de Koch

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 14 Juin 1926

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Henri GARDÈRE

Interne des Hôpitaux de Lyon

Préparateur à l'Institut bactériologique

Né à TULLE (Corrèze), le 4 Janvier 1895



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

—
1926

**ACTION BACTÉRICIDE DES LIQUIDES PLEURAUX
TUBERCULEUX**

(Pleurésie séro-fibrineuse et Hydro-Pneumothorax)

SUR LES CULTURES HOMOGÈNES DE BACILLE DE KOCH

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1925-1926 N° 115

Travail du laboratoire de M. le Professeur P. Courmont
à l'Institut bactériologique et de son Service à l'Hôtel-Dieu

Action Bactéricide
des
Liquides pleuraux Tuberculeux
(Pleurésie Séro-Fibrineuse, et Hydro-Pneumothorax)
sur les cultures homogènes
de Bacille de Koch

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON
et soutenue publiquement le 14 Juin 1926

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Henri GARDÈRE

Interne des Hôpitaux de Lyon

Préparateur à l'Institut bactériologique

Né à TULLE (Corrèze), le 4 Janvier 1895



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

—
1926

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire M. H. HUGOUNENQ.
 Doyen M. J. LEPINE.
 Assesseur M. ROQUE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, FLORENCE (A.), TEISSIER.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. BARD
Cliniques chirurgicales	ROQUE
Clinique obstétricale et Accouchements.....	TIXIER
Clinique ophtalmologique	BERARD
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	COMMANDEUR
Clinique neurologique et psychiatrique	ROLLET
Clinique des maladies des enfants.....	NICOLAS
Clinique des maladies des femmes.....	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURIQUAND
Clinique des maladies des voies urinaires.....	VILLARD
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie.....	LANNOIS
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	ROCHET
Chimie biologique et médicale	NOVE-JOSSERAND
Chimie organique et Toxicologie	CLUZET
Matière médicale et Botanique	HUGOUNENQ
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL
Anatomie	BRETIN
Histologie	GUIART
Physiologie	LATARJET
Pathologie interne	POLICARD
Pathologie et Thérapeutiques générales	DOYON
Anatomie pathologique	COLLET
Chirurgie opératoire	CADE
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie.....	PAYIOT
Médecine légale	PATEL
Hygiène	ARLOING (F.)
Thérapeutique, hydrologie et climatologie	MARTIN (Etienne)
Pharmacologie	COURMONT (P.)
	PIC
	LEULIER

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe	MM. VALLAS
— — — Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN
— — — Chimie minérale	BARRAL
— — — Urologie	GAYET

CHARGE DE COURS COMPLEMENTAIRE

Stomatologie	TELLIER
--------------------	---------

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	COTTE	CORDIER (V.)	MAZEL
GARIN	DUROUX	ROUBIER	SANTY
SAVY	TRILLAT	FAVRE	DUNET
FROMENT	SARVONAT	BONNET	CHALIER (André)
THEVENOT (Lucien)	FLORENCE (G.)	RHENTER	CHALIER (Joseph)
PIERY	ROCHAIX		NOEL
			COBBIER (Pierre).

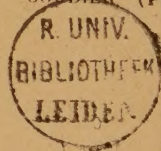
M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. COURMONT, président; FROMENT, assesseur:

ROCHAIX et FAVRE, agrégés.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE ET DE MA MÈRE

A MA FEMME

A MON FRÈRE, LE DOCTEUR CHARLES GARDERE,
Médecin des Hôpitaux

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUL COURMONT,
Professeur d'Hygiène

Il a été notre maître. Il nous a donné l'idée de ce travail que nous avons accompli sous sa direction effective dans son laboratoire à l'Institut bactériologique.

Nous l'assurons de notre attachement respectueux et nous le remercions de toute la bienveillance qu'il nous témoigne depuis longtemps.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ FROMENT

En souvenir d'un semestre d'externat et d'un semestre d'internat où il nous a donné un gage de sa grande sympathie en nous associant à ses travaux. Une grande partie de notre formation médicale lui est due. Nous le remercions et lui gardons une profonde reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ROCHAIX

Il nous a initié à la microbiologie au laboratoire d'hygiène et a continué à nous marquer son intérêt à l'Institut bactériologique.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ FAVRE

Il nous a toujours accueilli avec bienveillance chaque fois que nous lui avons demandé conseil et que nous avons eu recours à sa grande science de l'histologie.

A MONSIEUR LE DOCTEUR GATE,

Qui a été notre chef de service à l'Institut bactériologique. Il est pour nous un maître et un ami.

A NOS MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX :

Externat

MONSIEUR LE PROFESSEUR PATEL,
MONSIEUR LE PROFESSEUR V. ROCHET,
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ FROMENT.
MONSIEUR LE DOCTEUR PALLASSE.

Internat

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. LEPINE,
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ V. CORDIER,
MONSIEUR LE DOCTEUR REBATTU,
MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUL COURMONT,
MONSIEUR LE DOCTEUR L.-M. BONNET,
MONSIEUR LE PROFESSEUR BARD,
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SAVY,
MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ FROMENT.

A LA FACULTÉ,

MONSIEUR LE PROFESSEUR VILLARD,

Dont nous avons été le préparateur
chargé du laboratoire de la clinique
de gynécologie.

ACTION BACTÉRICIDE DES LIQUIDES PLEURAUX TUBERCULEUX

(Pleurésie séro-fibrineuse et Hydro-Pneumothorax)
SUR LES CULTURES HOMOGÈNES DE BACILLE DE KOCH

PUBLICATIONS ANTÉRIEURES

1. *Roue dentée et résistance des antagonistes diminuent ou augmentent, suivant les attitudes du parkinsonien.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 15 déc. 1925 (en collaboration avec M. Froment).
2. *Résistance des antagonistes et roue dentée parkinsoniennes; étude myographique de leurs variations en fonction de l'attitude statique.* « Société de Biologie », 21 décembre 1925 (réunion de Lyon) (en collaboration avec M. le Docteur Froment et M^{me} Vincent-Loison).
3. *Résistance des antagonistes et roue dentée parkinsoniennes : étude électro-myographique de leurs variations en fonction de l'attitude statique.* « Soc. de Biologie », 21 décembre 1925 (réunion de Lyon) (en collaboration avec MM. les Docteurs Froment et P. Veil).
4. *La rigidité parkinsonienne et la roue dentée s'effacent au repos. Leur caractère dystasique.* « Société de Neurologie de Paris », séance du 7 janvier 1926 (en collaboration avec M. le Docteur Froment).
5. *De la kinésie paradoxale parkinsonienne, des paradoxes striés et des perturbations de la fonction de stabilisation* « Société de Neurologie de Paris », 7 janvier 1926 (en collaboration avec M. le Docteur Froment).

6. *Parkinsonisme fruste et perte des mouvements automatiques associés sans rigidité apparente. De la rigidité latente et des moyens de la rendre évidente.* « Société de Neurologie de Paris », du 6 mai 1926 (en collaboration avec M. le Docteur Froment).
7. *Test du poignet figé et troubles de l'Equilibre. Stabilisation à minima et stabilisation renforcée.* « Société de Neurologie de Paris », 4 mars 1926 (en collaboration avec M. le Docteur Froment).
8. *Rigidité parkinsonienne et roue dentée. Des attitudes qui les renforcent.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 23 février 1926 (en collaboration avec M. le Docteur Froment).
9. *Thoracoplastie pour tuberculose pulmonaire unilatérale.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 1923 (en collaboration avec M. le Docteur V. Cordier).
10. *Doit-on avoir recours à l'Hyoscine dans les états de dépression nerveuse ?* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 9 février 1926 (en collaboration avec M. le Docteur Froment).
11. *Sarcome généralisé au rachis. Confrontation de l'examen anatomique et des données de l'exploration lipiodolée.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 26 janvier 1926 (en collaboration avec MM. le Docteur Froment et A. Chaix).
12. *Pyopneumothorax non tuberculeux par lésions syphilitiques pulmonaires, prouvées par l'examen histologique.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 22 décembre 1925.
13. *Endocardite végétante de l'orifice pulmonaire chez un blennorragique atteint de néphrite aiguë.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 13 janvier 1925 (en collaboration avec MM. le Prof. Bard et le Docteur Langeron).
14. *Anévrisme disséquant de l'aorte thoraco-abdominale (présentation de pièces).* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 2 décembre 1924 (en collaboration avec M. le Prof. Bard).

15. *Hydarthrose double et kératite interstitielle dans un cas de syphilis infantile acquise.* « Société des Sciences Médicales de Lyon », 16 janvier 1924 (en collaboration avec M. le Docteur L.-M. Bonnet).
16. *Dysenterie bacillaire et paludisme sporadiques.* « Société des Sciences médicales », 23 janvier 1924.
17. *Dilatation bronchique par corps étranger (dent) chez un adulte. Examen histologique.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon, 20 novembre 1924 (en collaboration avec M. le Prof. Courmont).
18. *Dilatation bronchique due à la présence d'une dent dans les voies respiratoires.* « Province Dentaire », n  1, janvier-février 1926 (en collaboration avec M. Brugirard).
19. *Etude bactériologique d'un fibrome sphacélé.* « Société des Sciences Médicales de Lyon », 12 mars 1924 (en collaboration avec M. le Docteur Michon et M. Creysel).
20. *Kystes hydatiques suppurés du petit bassin.* « Société des Sciences Médicales de Lyon », 21 mai 1924 (en collaboration avec MM. le Docteur Michon et Creyssel).
21. *Ulcère perforé de l'estomac, opéré et guéri.* « Société des Sciences Médicales de Lyon », 14 décembre 1921 (en collaboration avec M. le Docteur Alamartine).
22. *Tab s avec arthropathie de la hanche chez une femme de 74 ans.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 31 octobre 1922 (en collaboration avec MM. les Docteurs Rebattu et Grivet).
23. *Crises gastriques et ent ralgiques chez un tabétique avec lésions de l'estomac et de l'intestin.* « Société Médicale des Hôpitaux de Lyon », 19 décembre 1922 (en collaboration avec M. le Docteur Rebattu et Grivet).
24. *Kyste méningé traumatique de la loge cérébelleuse avec quadriplégie.* « Société des Sciences médicales de Lyon », 28 juin 1922 (en collaboration avec M. le Docteur Rebattu).

25. *Zona intercostal avec névralgie persistante améliorée par la radiothérapie.* « Société des Sciences médicales des Hôpitaux de Lyon », 7 mars 1922 (en collaboration avec M. le Prof. J. Lépine et le Docteur Japiot).
 26. *Association Bacille de Koch et Pneumocoque dans une pneumonie mortelle.* « Société Médical edes Hôpitaux de Lyon, 3 juin 1924 (en collaboration avec M. le Prof. Courmont et le Doct. Boissel).
 27. *Iconographie « des paralysies des nerfs moteurs »*, de M. le Docteur Froment dans le traité de pathologie médicale de Sergent-Babonneix et Ribadeau-Dumas.
 28. *Iconographie de « la préhension »*, thèse de Trarieux, Lyon, 1921.
 29. *Iconographie des tests objectifs de la restauration fonctionnelle dans les paralysies périphériques.* Thèse de Piquemal, Lyon, 1921.
-

PREMIÈRE PARTIE

Etude de l'action bactéricide du liquide pleural tuberculeux sur les cultures homogènes de Bacilles de Koch

Introduction

Dans une série d'expériences, M. Paul Courmont(1), cultivant le bacille de Koch, dans du bouillon glycérimé, additionné à des taux différents de liquide pleural provenant de pleurésies séro-fibrineuses, avait vu, dès 1898, que la présence de ce liquide pleural retarde ou empêche le développement des germes ensemencés. Ce retard de culture était bien la manifestation de propriétés bactéricides propres aux épanchements tuberculeux. En effet, les mêmes expériences, exécutées en utilisant le liquide pleural provenant d'épanchements cardiaques, montraient que ce liquide pleural ne gênait nullement le développement

(1) P. COURMONT, « Action des épanchements des séreuses sur les cultures de bacilles de Koch en milieu liquide ». *Soc. de Biol.*, 28 mai 1898.

du bacille tuberculeux. Reprenant, il y a un an et demi, avec M. Paul Courmont, ces expériences sur le pouvoir bactéricide des épanchements pleuraux tuberculeux, nous avons cultivé une même souche de bacille de Koch poussant en *culture homogène* : la souche humaine A. (employée depuis 28 ans par Saturnin Arloing et Paul Courmont), en présence de différents liquides pleuraux tuberculeux, et nous avons constamment reproduit le retard de culture qui avait été observé par M. Paul Courmont, dans des conditions expérimentales semblables.

Les liquides que nous avons utilisés pour ces expériences étaient de provenances très diverses. Les uns provenaient de pleurésies séro-fibrineuses tuberculeuses indiscutables : la cytologie avait montré dans ces liquides l'existence d'une lymphocytose abondante et, dans plusieurs cas, l'inoculation au cobaye a été positive.

Nous avons aussi expérimenté des liquides provenant d'hydro-pneumothorax tuberculeux. On n'avait pas encore recherché les propriétés bactéricides de ces épanchements à l'égard du bacille tuberculeux. Or, ces liquides ont révélé des propriétés bactéricides aussi énergiques que celles qu'on avait pu observer dans les pleurésies séro-fibrineuses.

Les cultures de bacille de Koch que nous avons pratiquées en présence de liquide pleural ont été faites en eau peptonée glycinée, dans laquelle le liquide pleural avait été dilué aux taux de 1/8, 1/4 et 1/2. Enfin, nous avons également pratiqué ces cultures dans du liquide pleural pur.

La masse totale du liquide, dans laquelle les germes ont étéensemencés, était de 5 cmc.

Nous avons chaque foisensemencé 1 goutte de culture ($1/20$ de cmc.) et la souche utilisée avait été cultivée pendant un mois en eau peptonée glycinée.

Les retards de culture que nous avons observés dans ces conditions variaient, selon le degré de la dilution utilisée. Le témoinensemencé en eau peptonée glycinée pure nous donnait constamment un trouble marqué du quatrième au cinquième jour. A cette date, aucun des tubes contenant du liquide pleural n'avait encore poussé. Dans les jours qui suivaient, et cela d'une manière très variable, selon les liquides pleuraux expérimentés, on voyait apparaître le trouble microbien dans la dilution au $1/8$, puis au $1/4$. La dilution au $1/2$ et le tube de liquide pleural pur ne donnaient en général une culture que très longtemps après ces deux premiers tubes.

Ces observations reproduisaient très exactement, dans un grand nombre de cas et d'une manière constante, les faits déjà décrits par Paul Courmont.

Quelques expériences pratiquées dans les mêmes conditions avec des liquides de pleurésies cardiaques montraient également que ces liquides étaient à peu près complètement dénués du pouvoir de retarder la culture du bacille de Koch. Il était donc évident que nous étions en présence d'une propriété particulière au liquide pleural tuberculeux, paraissant en rapport avec les phénomènes d'immunisation locale, déjà caractérisée par les propriétés agglutinantes de ces liquides à l'égard du bacille tuberculeux, et la

possibilité de dévier le complément, en se servant de ces mêmes liquides, en présence d'un antigène tuberculeux. Nous nous sommes attaché à préciser la nature vraie et la puissance d'action de ces propriétés bactéricides : étude qui fait l'objet de la première partie de notre thèse.

CHAPITRE PREMIER

Action bactéricide du liquide pleural sur les doses minima de Bacille tuberculeux susceptibles de donner une culture

Les expériences que nous allons décrire dans ce chapitre ont pour but de démontrer que les retards de culture provoqués par l'addition de liquide pleural tuberculeux au bouillon peptoné glyciné, sont bien la manifestation de propriétés bactéricides vraies, au sens propre du mot, et non de propriétés spéciales aux liquides pleuraux tuberculeux, propriétés qui leur permettraient seulement d'entraver le développement du bacille dans le milieu où il est ensemencé, mais cela sans tuer aucun des germes.

Au cours des expériences que nous avons résumées dans notre introduction, nous avons eu la curiosité de maintenir certains de nos tubes, contenant des dilutions de liquide pleural et ensemencés de bacille de Koch, à l'étuve, durant un laps de temps qui est

allé jusqu'à 65 jours. Dans ces conditions, nous avons observé les faits suivants.

Les tubes contenant du liquide pleural dilué au $1/8$ et au $1/4$, après être demeurés clairs pendant quelques jours, avaient présenté un trouble léger, très inférieur à celui du témoin. Par la suite, ces tubes s'étaient mis à pousser brusquement avec abondance; il semblait qu'il s'était produit une chute brusque des propriétés antibiotiques du liquide pleural, et durant la période d'un mois qui suivit cet effondrement du pouvoir bactéricide, ces mêmes tubes poussèrent avec la même régularité et la même intensité que les témoins de bouillon glyciné pur. Le 65^e jour, ces cultures contenaient d'énormes grumeaux sédimentés dans le fond du tube. Le liquide surnageant présentait lui-même un trouble intense.

Par contre, les tubes contenant du liquide pleural dilué au $1/2$, et les tubes de liquide pleural pur ne présentaient, le 65^e jour, qu'un développement microbien infime. Le fond du tube contenait un faible dépôt, d'aspect pulvérulent; le liquide surnageant était clair. Depuis près d'un mois, la végétation microbienne paraissait à peu près arrêtée; il semblait que le microbe ensemencé était mort, après avoir faiblement cultivé.

Afin de vérifier si le microbe ensemencé avait véritablement perdu ses propriétés vitales, la souche présumée morte a été repiquée en eau peptonée glycinée dans les conditions suivantes. Après agitation des tubes, suffisante pour dissoudre le dépôt microbien, une partie du liquide a été prélevée à la pipette

et une seule goutte a étéensemencée en eau peptonée glycélinée.

Contrairement à notre attente, le microbe n'avait pas perdu son pouvoir végétatif. En effet, nous vîmes éclore, après un délai à peu près normal de 5 à 6 jours, une culture de bacilles tuberculeux poussant avec facilité.

Les bacilles examinés au microscope, dans cette nouvelle culture, ne paraissaient pas présenter ces caractères de dégénérescence qui ont été décrits dans les cultures soumises à l'action du liquide pleural, bacilles granuleux, bacilles ramifiés (caractères que nous avons cependant observés parfois sur les bacilles soumis à l'action du liquide pleural pur). Dans les premiers jours de développement de la culture, on observait seulement, par coloration au Ziehl, certains bacilles bleus, ayant tous les caractères du bacille tuberculeux, entremêlés dans les feutrages de bacilles rouges, mais ayant cependant perdu eux-mêmes leur acido-résistance. Au bout de trois jours de culture, ces bacilles bleus avaient disparu et la souche n'a plus donné que des bacilles acido-résistants (1).

Fallait-il déduire de cette observation, qui nous montrait le bacille tuberculeux encore vivant dans des cultures où il ne végétait pas, que le liquide pleural ne possédait pas des propriétés bactéricides vraies à son égard ? Fallait-il en déduire que ce liquide pleural, utilisé à une certaine dose, était susceptible

(1) Cette perte temporaire de l'acido-résistance des cultures homogènes a été démontrée il y a 28 ans par S. Arloing et P. Courmont.

d'imprégner le microbe de substances qui lui enlevaient la faculté de se multiplier ? Mais cela, sans altérer de manière définitive son pouvoir végétatif qu'il pouvait retrouver dès qu'il s'était débarrassé de ces « substances retardantes » ?

Nous n'étions plus autorisé à utiliser le terme « d'action bactéricide », car il dépassait la réalité des faits et constituait une pétition de principe. Il allait falloir adopter la dénomination plus exacte « d'action retardante » du liquide pleural à l'égard du bacille tuberculeux.

Avant d'adopter la conception en somme nouvelle de « substances immunisantes n'ayant qu'un pouvoir d'arrêt », qui paraissait d'ailleurs cadrer merveilleusement avec la notion clinique des réveils successifs de l'infection tuberculeuse latente dans l'organisme, durant de longues périodes, nous jugeâmes nécessaire d'éprouver l'action du liquide pleural *sur la dose minima de bacilles tuberculeux capable de donner une culture.*

Afin de déterminer la quantité de microbes minima qu'il était nécessaire d'ensemencer en se servant de la souche que nous avions l'habitude d'utiliser, nous l'avons ensemencée à doses faibles (1 goutte dans 20 cmc. d'eau peptonée glycinée). Au bout de 7 jours d'étuve, le bouillon présentait un trouble moyen. A ce moment, la quantité de microbes dans 1 cmc. fut soigneusement numérée, en utilisant le compte-microbes de Salimbeni. *La culture contenait 400 millions de bacilles par centimètre cube.*

Cette culture fut alors stérilisée au formol et conservée dans un tube scellé à la lampe, pour servir d'étalon dans les expériences ultérieures. Dans chacune de ces expériences, en effet, la culture souche qui devait servir de point de départ pour les dilutions, était comparée, par transparence sur fond noir, à cet étalon, et soigneusement ramenée par dilutions au degré d'opacité exact de la culture étalon. En supposant que la numération de bacilles que nous avions pratiquée dans le témoin ne fût pas absolument précise (car elle est très difficile), nous étions certain d'arriver cependant, en employant toujours les mêmes méthodes de dilution, à ensemer des doses de microbes équivalentes dans chaque expérience, puisque ces dilutions avaient toujours pour point de départ une culture ayant exactement la même opacité que la culture étalon.

Par une série d'observations, nous sommes arrivé à déterminer que 100 microbes donnaient à coup sûr une culture dont le premier trouble se manifestait au bout de 10 jours. Au-dessous de ce chiffre, 40-30-20 microbes pouvaient donner un trouble apparent du bouillon en 12 à 14 jours; cependant, dans un certain nombre de cas, le bouillon demeurait stérile. 10 microbes ne nous ont jamais donné de culture.

Il résultait de ces constatations que nous devions expérimenter le pouvoir bactéricide du liquide pleural sur un nombre de bacilles variant de 500 à 10, pour nous rendre compte si ce liquide pleural était véritablement doué de propriétés bactéricides ou seulement d'un pouvoir retardant.

Dans cette expérience, nous nous sommes placés dans les conditions suivantes.

1° METHODE DE DILUTION UTILISEE

Le point de départ de la dilution est une culture de 7 jours, parfaitement homogène, du bacille tuberculeux A. Par addition d'eau peptonée glycinée, elle est ramenée très exactement à l'opacité de l'étalon, observée par transparence sur fond noir.

Dans un premier tube, contenant 4 cmc. d'eau peptonée glycinée, on dilue 1 cmc. de la culture de 7 jours; soit 400 millions de bacilles en suspension dans 5 cmc. de bouillon.

Dans un deuxième tube, contenant 5 cmc. de bouillon, on dilue $1/20$ de cmc. de la première solution. Soit 4 millions de microbes.

Dans un troisième tube, contenant également 5 cmc. de bouillon, on dilue encore $1/20$ de cmc. de la solution II. On obtient ainsi une troisième dilution de 40.000 bacilles dans 5 cmc. C'est la *dilution-mère* qui va nous permettre d'ensemencer.

2° ENSEMENCEMENT

L'ensemencement a été fait dans 9 séries de 2 tubes, contenant chacun 6 cmc. de bouillon. Dans chaque série, 1 tube contient 0 cmc. 5 du liquide pleural « Delor... ». L'autre tube est un témoin ne contenant que du bouillon. Les deux tubes de chaque série recevront la même quantité de bacilles.

a) La première série reçoit $1/20$ de cmc. de la solution-mère, soit $1/20$ de 40.000 bacilles/ $5 = 1/20$ de 8.000 = 400 bacilles.

b) Pour ensemençer les séries 2, 3, 4 et 5, on dilue $1/10$ de cmc. de la solution-mère, soit 800 bacilles, dans 10 cmc. de bouillon.

Chaque tube de la série 2 reçoit 4 cmc. = 320 bacilles.
Chaque tube de la série 3 reçoit 3 cmc. = 240 bacilles.
Chaque tube de la série 4 reçoit 2 cmc. = 160 bacilles.
Chaque tube de la série 5 reçoit 1 cmc. = 80 bacilles.

c) Pour ensemençer les séries 6, 7, 8 et 9, on dilue $1/10$ de cmc. de la solution-mère dans 10 cmc. de bouillon. 1 cmc. de cette dilution contient 80 bacilles. Ce centimètre cube est dissous dans 10 cmc. de bouillon répartis de la manière suivante :

Chaque tube de la série 6 reçoit 4 cmc. = 32 bacilles.
Chaque tube de la série 7 reçoit 3 cmc. = 24 bacilles.
Chaque tube de la série 8 reçoit 2 cmc. = 16 bacilles.
Chaque tube de la série 9 reçoit 1 cmc. = 8 bacilles.

Le bouillon de culture n'est complété dans les différents tubes qu'après toutes les manipulations, de façon à ce qu'on puisse égaliser tous les tubes au niveau commun de 6 cmc.

Le tableau suivant résume toutes ces dilutions :

Tableau des Dilutions microbiennes
(Tubes bactéricides et tubes témoins)

		Microbes	Liquide pleural	Bouillon
1 ^{re} série	bactéricide	400	0,5	5,5
	témoin	400	0	6
2 ^e série	bactéricide	320	0,5	5,5
	témoin	320	0	6
3 ^e série	bactéricide	240	0,5	5,5
	témoin	240	0	6
4 ^e série	bactéricide	160	0,5	5,5
	témoin	160	0	6
5 ^e série	bactéricide	80	0,5	5,5
	témoin	80	0	6
6 ^e série	bactéricide	32	0,5	5,5
	témoin	32	0	6
7 ^e série	bactéricide	24	0,5	5,5
	témoin	24	0	6
8 ^e série	bactéricide	16	0,5	5,5
	témoin	16	0	6
9 ^e série	bactéricide	8	0,5	5,5
	témoin	8	0	6

3° RESULTATS OBSERVES

Les tubes ont été placés à l'étuve à + 37°.

8^e jour d'étuve : Aucune culture apparente ni dans les tubes bactéricides, ni dans les témoins.

10^e jour d'étuve : Apparition de la culture dans les tubes témoins de bouillon pur des 5 premières séries.

Les témoins 6, 7, 8, 9 restent clairs. Aucun des tubes bactéricides n'a poussé.

12^e jour d'étuve : Le louche des témoins des 5 premières séries s'est accusé. Le témoin de la série 6 présente un début de culture. Les tubes bactéricides demeurent stériles.

14^e jour d'étuve : Apparition de la culture dans le témoin de la 8^e série (16 bacilles), alors que le témoin de la 7^e série (24 bacilles) demeure stérile. Tous les tubes bactéricides demeurent stériles sans exception.

17^e jour d'étuve : Tous les témoins présentent une culture abondante, sauf les témoins des séries 7 et 9, qui sont clairs. Les tubes bactéricides sont toujours stériles.

20^e jour d'étuve : Aucun changement, en dehors de l'épaississement de la culture dans les témoins qui ont déjà poussé.

40^e jour d'étuve : L'expérience est terminée. Les témoins 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 ont fortement poussé. Ils sont vérifiés au microscope. Ils contiennent du bacille de Koch à l'état pur.

Les témoins 7 et 9 demeurent stériles.

Aucun des tubes contenant du liquide pleural n'a présenté de végétation microbienne. Ils demeurent actuellement parfaitement limpides.

Ces liquides stériles sont centrifugés une demi-heure à grande vitesse. Le culot repris à la pipette est ensemencé en bouillon pur. Il n'a donné aucune culture, les bacilles ayant été vraisemblablement tués au contact du liquide pleural.

4° CONCLUSIONS

Il ressort de cette expérience qu'une dose de liquide pleural (issue d'une pleurésie séro-fibrineuse), de 0 cmc. 5, diluée dans 6 cmc. de bouillon glyciné, est capable de tuer un nombre de bacilles se rapprochant des doses minima permettant d'avoir une culture à coup sûr.

Etudiant cette expérience en détail, nous voyons que :

a) La dose de bacilles minima permettant d'obtenir une culture (avec le bacille que nous utilisons et par la méthode de dilution que nous avons employée) paraît être de 32 à 16 bacilles. En effet, 32 et 16 bacilles produisent un louche appréciable en 12 à 14 jours, alors qu'une quantité intermédiaire commencée de 24 bacilles est demeurée stérile. Ce fait qui concorde entièrement avec nos constatations préliminaires sur la dose minima nécessaire pour obtenir une culture, montre que le nombre de 32 bacilles est un seuil au delà duquel on peut obtenir ou ne pas obtenir la culture. Par contre, avec des doses plus élevées, et en particulier avec 100 bacilles, la culture peut être obtenue en 10 à 12 jours.

b) Aucun des tubes contenant le liquide pleural n'a poussé. Pourtant ces tubes avaient étéensemencés dans les mêmes conditions que les témoins (en même temps et avec la même dilution provenant de la même culture).

Logiquement, on est obligé d'admettre que ces bacilles qui, au bout de 40 jours, n'avaient donné aucune culture, et qui ont été ensuite repiqués après centrifugation du milieu dans lequel ils avaient été ensemencés, avaient été vraisemblablement tués par le liquide pleural au contact duquel ils s'étaient trouvés pendant 40 jours.

De plus, étant donné le titre de dilution élevé de ce liquide pleural en bouillon glyciné (1/12), aucun phénomène physique ou chimique ne peut être en jeu dans cette expérience, en dehors des propriétés biologiques du pouvoir bactéricide, que doit posséder le liquide pleural. On doit enfin admettre que si l'on établit un certain rapport entre le nombre de bacilles ensemencés en bouillon et la quantité de liquide pleural qui leur est opposée, il ne se produit pas un simple retard de culture, tel que celui que nous avons observé dans les expériences décrites au cours de notre introduction, mais au contraire les bacilles sont véritablement tués.

En somme, les constatations que nous avons faites démontrent que le liquide pleural possède de véritables propriétés bactéricides.

CHAPITRE II

Le pouvoir bactéricide du liquide pleural Limites et modalités de son action sur les cultures (Effets bactéricides. Effets retardants)

Les constatations, résumées dans notre introduction, montraient que des doses de liquide pleural tuberculeux de 5/8 de cent. cube à 5 cent. cubes entraînent le développement d'une goutte de culture (âgée d'un mois)ensemencée en eau peptonée glycinée, sans pouvoir cependant faire disparaître entièrement ses propriétés végétatives.

Par contre, les faits exposés dans notre premier chapitre montrent que 0 cmc. 5 de ce même liquide agissant sur 100 à 500 bacilles tuberculeux ensemencés en eau peptonée glycinée paraissent tuer les microbes ensemencés.

Il semble donc que l'action du liquide pleural à l'égard du bacille de Koch, varie selon le nombre de

bacilles mis en présence d'une certaine dose de liquide pleural ; ou plutôt, pour nous exprimer de manière plus mathématique, selon les proportions établies entre la dose de liquide pleural et la quantité numérique de bacilles. Si certaines proportions sont établies, l'action observée est « bactéricide », les germes sont tués. Si l'on change au contraire ces proportions dans un certain sens, on n'observe plus d'action bactéricide au sens étymologique de ce mot, mais une action retardante, une diminution de la végétabilité du microbe, au lieu de sa suppression totale. Telles sont les hypothèses que suggèrent les faits rapportés par nous jusqu'ici.

Pour vérifier ces hypothèses et fixer en même temps *les seuils* qui séparent *l'action bactéricide* de *l'action retardante*, nous avons fait agir une quantité invariable de liquide pleural tuberculeux (0 cmc. 5) sur des quantités croissantes de bacilles de Koch échelonnées de 1.000 à 20.000.000.

Le liquide utilisé était celui d'une pleurésie séro-fibrineuse : la pleurésie Foug...

Dix séries de tubes ont été mises en expérience. Les quantités de bacillesensemencées dans chaque série augmentaient de série en série, dans les proportions suivantes : 1.000, 2.000, 10.000, 50.000, 100.000, 500.000, 1.000.000, 5.000.000, 10.000.000, 20.000.000.

Chaque série était constituée par deux tubes. Dans chacun de ces tubes étaitensemencé le même nombre de microbes. Un des deux, le tube bactéricide, conte-

nait 0 cc. 5 de liquide pleural Foug..., dilué dans 5 cc. 5 de bouillon glycérimé. L'autre, tube témoin, ne recélait que du bouillon glycérimé à la dose de 6 cc.

1° METHODE DE DILUTION UTILISEE ET ENSEMENCEMENT

Nous nous sommes servi, pour l'ensemencement, d'une dilution faite avec une culture homogène du bacille de Koch A, âgée de 7 jours et ramenée, par addition de bouillon, à l'opacité de la culture étalon, contenant 400 millions du même bacille par centimètre cube.

a) Chaque tube de la première série a reçu 1 goutte de cette culture, équivalant à 20 millions de bacilles.

b) Pour ensemenecer la deuxième et la troisième séries, nous avons fait la dilution suivante :

1 goutte de la culture initiale a été diluée dans 4 cmc. de bouillon. Après avoir rendu cette dilution bien homogène, nous avons ensemenecé dans les tubes de la deuxième série 2 cmc. de cette dilution dans chaque tube, soit 10 millions de bacilles dans chacun.

Dans les tubes de la troisième série, nous avons ensemenecé 1 cmc. d'une semblable dilution, soit 5 millions de bacilles dans chacun.

c) Pour ensemenecer les séries 4 et 5, nous avons préparé une dilution identique de 1 goutte de la culture de 7 jours, dans 4 cmc. de bouillon.

Les tubes de la quatrième série ont reçu chacun

0 cmc. 2, soit 1 million de bacilles. Les tubes de la cinquième série ont reçu 0 cmc. 1, soit 500.000 bacilles chacun.

d) Pour ensemençer les séries 6, 7, 8, nous avons fait une dilution au deuxième degré, en prenant pour point de départ la dilution qui avait servi pour les deux séries précédentes.

0 cmc. 1 de cette dilution contenait 500.000 bacilles. Ils ont été dilués dans 5 cmc. de bouillon, qui ont servi à l'ensemencement dans les proportions suivantes : la sixième série a reçu 1 cmc. = 100.000 bacilles. Les tubes de la septième série ont reçu chacun 0 cmc. 5 = 50.000 bacilles. Enfin, les tubes de la huitième série ont reçu chacun 0 cmc. 1 = 10.000 bacilles.

e) Pour ensemençer les deux dernières séries, nous avons fait une dilution au troisième degré, en prenant pour point de départ la solution au deuxième degré, qui avait servi à ensemençer la série d, 0 cmc. 1 de cette dilution, soit 10.000 bacilles, ont été, en effet, dilués dans 5 cmc. de bouillon, qui ont servi à ensemençer la neuvième et la dixième série, dans les proportions suivantes :

La neuvième série a reçu 0 cmc. 2, soit 2.000 bacilles ; la dixième série a reçu 0 cmc. 1, soit 1.000 bacilles.

En résumé, le résultat de toutes ces dilutions correspond au tableau suivant :

Tableau des dilutions microbiennes
(Tubes témoins, tubes bactéricides)

		Microbes	Liquide pleural	Bouillon
1 ^{re} série	témoin	20.000.000	0	6
	bactéricide	20.000.000	0,5	5,5
2 ^e série	témoin	10.000.000	0	6
	bactéricide	10.000.000	0,5	5,5
3 ^e série	témoin	5.000.000	0	6
	bactéricide	5.000.000	0,5	5,5
4 ^e série	témoin	1.000.000	0	6
	bactéricide	1.000.000	0,5	5,5
5 ^e série	témoin	500.000	0	6
	bactéricide	500.000	0,5	5,5
6 ^e série	témoin	100.000	0	6
	bactéricide	100.000	0,5	5,5
7 ^e série	témoin	50.000	0	6
	bactéricide	50.000	0,5	5,5
8 ^e série	témoin	10.000	0	6
	bactéricide	10.000	0,5	5,5
9 ^e série	témoin	2.000	0	6
	bactéricide	2.000	0,5	5,5
10 ^e série	témoin	1.000	0	6
	bactéricide	1.000	0,5	5,5

L'ensemble de ces tubes a été placé à l'étuve à + 37°, pendant une période de 64 jours.

2° RESULTATS OBSERVES

7^e jour d'étuve : Les témoins des 5 premières séries sont nettement louches. Les témoins des 6^e, 7^e, 8^e sé-

ries ont poussé plus faiblement. Les témoins des 9^e et 10^e séries sont encore limpides.

Les tubes bactéricides des 1^{re} et 2^e séries (série 20.000.000 et série 10.000.000) ont cultivé de manière presque aussi marquée que les témoins correspondants de ces séries. Il semble que, dans ces deux premières séries, le pouvoir bactéricide ait été en quelque sorte saturé, de manière complète, par les bacilles ensemencés. Dans toutes les autres séries, les tubes bactéricides sont demeurés clairs.

10^e jour d'étuve : Les témoins des huit premières séries présentent une culture abondante. Les témoins des 9^e et 10^e séries commencent à pousser. Parmi les tubes bactéricides, on note les points suivants : les tubes bactéricides des deux premières séries poussent de manière aussi rapide que leur témoin, ce qui confirme la saturation du pouvoir bactéricide. Le tube bactéricide de la 3^e série commence à pousser. Il a donc trois jours de retard sur son témoin.

12^e jour d'étuve : Tous les témoins ont abondamment poussé, présentant tous une opacité presque équivalente. Les tubes bactéricides des 1^{re} et 2^e séries suivent les témoins. Le tube bactéricide de la 3^e série continue à pousser, mais présente une opacité bien moins marquée que celle des tubes précédents. Les tubes bactéricides des 4^e et 5^e séries commencent à pousser aujourd'hui ; ils ont cinq jours de retard sur leurs témoins.

Les tubes bactéricides des 6^e, 7^e, 8^e, 9^e et 10^e séries demeurent absolument limpides.

14^e jour d'étuve : Les tubes bactéricides des 6^e et

7^e séries commencent à pousser aujourd'hui et le tube de la série 7 paraît même avoir poussé plus fortement que le tube de la série 6, ce qui est en apparence paradoxal.

Ces tubes ont 7 jours de retard sur leur témoin.

Les tubes bactéricides des séries 8, 9 et 10 demeurent limpides.

19^e jour d'étuve : Le tube bactéricide de la 8^e série commence à cultiver aujourd'hui, ayant 9 jours de retard sur son témoin. Les tubes bactéricides des 9^e et 10^e séries demeurent absolument limpides.

64^e jour d'étuve. — Résultats définitifs :

1^o Tous les témoins sont devenus extrêmement troubles.

2^o Les tubes bactéricides des huit premières séries sont aussi troubles que les témoins.

3^o Les tubes bactéricides des 9^e et 10^e séries, qui avaient été ensemencés avec 2.000 et 1.000 bacilles, sont demeurés absolument clairs, alors que leurs témoins, qui avaient été également ensemencés avec les mêmes doses de microbes, sont aussi troubles que tous les autres témoins. On prélève dans chaque tube contenant une culture, 1 goutte, qui est étalée, séchée, fixée et colorée par la méthode de Ziehl. On constate que les cultures contiennent du bacille de Koch pur et n'ont subi aucune contamination.

Le liquide des tubes 9 et 10, où le bacille de Koch n'a pas poussé, est centrifugé une demi-heure. Le culot est prélevé à la pipette et repiqué en bouillon glyciné. Ce repiquage n'a donné aucune végétation microbienne.

CONCLUSIONS

On peut résumer les résultats obtenus, de la manière suivante :

1.000 et 2.000 bacilles ensemencés en présence de 0 cmc. 5 de liquide de pleurésie séro-fibrineuse n'ont donné aucune culture en 64 jours et repiqués en bouillon pur sont demeurés stériles, alors que des témoins de bouillon glycérimé, ensemencés dans les mêmes conditions et avec les mêmes quantités de microbes, ont produit des cultures abondantes.

10.000 bacilles ensemencés en présence de 0 cmc. 5 de liquide pleural ont poussé avec 9 jours de retard sur le témoin ensemencé avec les mêmes quantités de microbes.

50.000 et 100.000 bacilles ensemencés en présence de 0 cmc. 5 de liquide pleural n'ont été retardés que de 7 jours sur leur témoin.

500.000 et 1.000.000 ont été retardés de 5 jours seulement.

5.000.000 de bacilles n'ont subi que 3 jours de retard sur leur témoin.

10.000.000 et 20.000.000 de bacilles n'ont subi, du fait de la présence de 0 cmc. 5 de liquide pleural, aucun retard appréciable de développement.

Il semble donc que ces constatations démontrent nettement que l'action bactéricide du liquide pleural à l'égard du bacille tuberculeux donne des résultats très différents, suivant la quantité de microbes ensemencée en présence de ce liquide.

L'unité bactéricide, pourrait-on dire, que nous

avons utilisée, était de 0 cmc. 5 de liquide pleural. Cette unité bactéricide paraît correspondre à un chiffre minimum de 2.000 bacilles tuberculeux qu'elle est susceptible de tuer.

Quand on fait agir cette unité bactéricide sur un nombre de microbes plus élevé, entre les limites de 10.000 et 5.000.000, elle provoque un retard de culture, qui paraît être d'autant plus long que la quantité de microbesensemencée a été plus faible.

Interprétant ce dernier fait, faut-il déduire que le retard de culture observé est dû à la mort d'un nombre de bacilles déterminé, alors que les autres conservent leur vitalité ? Dans cette hypothèse, le retard observé est provoqué par la diminution du nombre des microbes capables de se reproduire. Mais cette hypothèse ne nous paraît pas cadrer avec les observations que nous venons d'exposer.

Que l'on considère, en effet, que l'unité bactéricide, si elle est capable de tuer 2.000 microbes, n'atteint pas le chiffre de 10.000. Or, les effets retardants de l'unité bactéricide sur les microbesensemencés se sont manifestés en agissant sur des quantités microbiennes infiniment plus élevées, pouvant atteindre jusqu'au chiffre de 5.000.000. En raison de la disproportion évidente qui existe entre le nombre de bacilles que l'unité bactéricide est capable de tuer et le nombre de bacilles dont elle est capable de retarder la culture, nous sommes obligé d'admettre que l'ensemble des germesensemencés avait été frappé dans sa vitalité. Ceci revient à dire que les substances bactéricides du liquide pleural n'ont pas tendance à

se fixer sur un minimum de microbes qu'elles peuvent tuer, mais qu'au contraire elles ont tendance à imprégner l'ensemble des germes qui leur est soumis, paraissant produire sur ces germes une action nocive qui est proportionnelle à la quantité répartie sur chacun d'eux. La proportion de ces substances antibiotiques, fixées sur chaque bacille, produit pratiquement une diminution du pouvoir végétatif que caractérise le retard de culture que nous observons. Si l'on jette un coup d'œil sur l'ensemble de nos résultats, on voit nettement que le retard de culture par rapport au témoin est en raison inverse du nombre de germes soumis à l'action de l'unité bactéricide. Nous sommes donc logiquement amené à admettre que si, d'une part, la quantité de substance bactéricide fixée sur chaque microbe est en raison inverse du nombre de microbes sur lesquels ces substances sont également réparties, le retard de culture provoqué est, d'autre part, proportionnel à la quantité de substances antibiotiques fixées sur chaque individu.

Etant donné que la quantité de substances bactéricides répartie sur chaque microbe diminue au fur et à mesure que la quantité de ces microbes soumis à l'action de l'unité bactéricide augmente, il doit arriver un moment où la quantité fixée sur chacun d'eux deviendra insuffisante à provoquer un effet appréciable.

Pour l'unité 0 cmc. 5 de liquide tuberculeux, le chiffre limite à partir duquel aucun retard de culture ne se produit plus paraît être de 10 à 20.000.000. Nous avons vu, en effet, qu'à partir de 10.000.000 de germes

ensemencés, le liquide Foug..., que nous avons utilisé, n'a pas été susceptible de provoquer un décalage entre le jour d'apparition de la culture des microbes ensemencés dans le témoin et de ceux qui étaient soumis à l'action de l'unité bactéricide 0 cmc.⁵

On ne saurait généraliser à tous les bacilles tuberculeux les observations que nous venons d'exposer, de même qu'on ne saurait généraliser à tous les liquides pleuraux les chiffres que nous a donnés le liquide Foug... Cependant, ces expériences ont été renouvelées à plusieurs reprises, avec d'autres épanchements tuberculeux, et nous avons pu constamment, en utilisant, soit des liquides de pleurésies séro-fibrineuses, soit des liquides d'hydrothorax apparus au cours du Forlanini, produire l'arrêt total de culture, en opposant 0 cmc. 5 de liquide pleural à 2.000 bacilles. Il semble donc que ce rapport soit en quelque sorte un rapport minimum, au-dessous duquel le pouvoir bactéricide des épanchements tuberculeux doit rarement descendre, mais qu'il peut vraisemblablement dépasser.

Par contre, il ne faut pas oublier que toutes ces observations ont été faites avec un bacille tuberculeux poussant en culture homogène et dont les réactions aux substances bactéricides ne sont certainement pas les mêmes que celles d'un microbe très virulent et isolé depuis peu de l'organisme. L'action du liquide pleural sur de semblables germes n'a pas été étudiée. Elle peut être soit plus faible, soit plus forte, que celle que nous avons observée ; seules des expériences précises peuvent nous fixer sur ce point.

Ces réserves faites et en appliquant nos conclusions au seul bacille homogène A, qui a servi à notre étude, nous nous croyons autorisé aux conclusions suivantes :

Le pouvoir bactéricide d'une quantité fixe de liquide pleural de 0 cmc. 5 équivaut à 2.000 bacilles. Une même dose de liquide pleural opposée à 10.000 à 5.000.000 de bacilles paraît imprégner l'ensemble des germesensemencés, se répartissant proportionnellement sur chaque individu, diminuant sa vitalité, son pouvoir de division et de reproduction.

Cette dose de 0cmc. 5 de liquide pleural tuberculeux ne présente aucune action appréciable, quand elle agit sur 10.000.000 à 20.000.000 de bacilles tuberculeux, 0cmc. 5 de liquide pleural sont donc pratiquement saturés par ce nombre de bacilles.

CHAPITRE III

Temps de contact nécessaire entre le liquide pleural et le bacille tuberculeux pour tuer ce bacille

A la suite des constatations rapportées dans les chapitres I et II, qui nous avaient montré que le liquide pleural peut tuer un certain nombre de bacilles de Koch,ensemencés dans un bouillon glycé-
riné, additionné d'une certaine quantité de ce liquide pleural, nous nous sommes demandé sur quel phénomène reposait, en quelque sorte, la disparition du pouvoir végétatif des germes ensemencés.

Le liquide pleural, par sa simple présence empêche-t-il la culture ? Ceci n'est pas admissible, car, ainsi que nous l'avons montré, les bacilles centrifugés et repiqués dans un milieu vierge de liquide pleural ne donnent plus de culture et se comportent comme s'ils étaient morts. Fait que nous n'avons pas pu vérifier par l'inoculation de ces bacilles au cobaye, parce

que les cultures anciennes de bacilles de Koch sont trop peu virulentes pour donner des inoculations positives. Dans les culots de centrifugation, nous avons essayé de retrouver le bacille de Koch après coloration, par la méthode de Ziehl. Ces essais répétés plusieurs fois ont toujours été négatifs. Non seulement nous n'avons pas retrouvé de bacilles de Koch ayant leur forme normale, mais même pas de ces formes de dégénérescence sur l'étude desquelles M. Karwacki (1) est revenu récemment et qu'il a provoquées par la culture du bacille de Koch dans les liquides pleuraux. Faut-il donc admettre que les bacilles de Koch soumis à l'action du liquide pleural tuberculeux sont non seulement tués, mais encore bactériolysés ? Ce fait est vraisemblable, mais nous n'en sommes pas assez sûr pour l'affirmer. Quoi qu'il en soit, que le bacille tuberculeux soit tué ou bactériolysé par le liquide pleural, un point reste à élucider dans le mécanisme de cette action bactéricide, c'est de savoir quel est le temps de contact minimum entre le liquide pleural et le bacille nécessaire pour arriver à juguler celui-ci ? Les observations suivantes répondent à cette question.

1° PRINCIPE DE L'EXPERIENCE

On prépare 7 séries de tubes. Chaque série est constituée par 2 tubes. L'un d'eux contient : liquide pleural Foug..., 0 cmc. 5, et eau peptonée glycinée,

(1) LÉON KARWACKI, *C. R. de la Soc. de Biol.*, tome XLII, Séance du 28 janvier 1925, page 801.

5 cmc. 5. L'autre est un témoin qui contient seulement : eau peptonée glycinée, 6 cmc.

Dans les 2 tubes de chaque série, nous ensemençons, en utilisant des procédés de dilution que nous avons déjà décrits, une quantité de 2.000 bacilles. Nous savons que dans ces proportions, les bacilles ne doivent donner aucune culture et doivent être tués par le liquide pleural.

Tous les tubes bactéricides sont placés à l'étuve à + 37°.

A des intervalles déterminés, 1 jour, 4 jours, 7 jours, etc., on procède à la centrifugation de chaque série (tubes bactéricides et tubes témoins).

Chaque milieu est centrifugé une demi-heure à grande vitesse. Le culot de centrifugation est ensuite repiqué en bouillon glyciné.

Faisons remarquer que la centrifugation du tube témoin, non placé à l'étuve et contenant la même quantité de bacilles que le tube bactéricide constitue une garantie de l'efficacité de la centrifugation et que, si le culot de ce témoin centrifugé donne une culture, on ne pourra réfuter nos expériences dans le cas, où les bacilles de Koch soumis à l'action du liquide pleural ne pousseraient pas, en nous objectant que ces bacilles de Koch n'ont pas été centrifugés assez longtemps et que le culot repiqué en contenait une quantité insuffisante.

2° RESULTATS

1^{re} Série. — Centrifugée après 24 heures de contact. Les bacilles centrifugés dans le témoin et ceux centri-

fugés dans le tube bactéricide ont donné une culture abondante.

2^{me} Série. — Centrifugée après 4 jours de contact. Les bacilles témoins donnent une culture abondante le 20^e jour. Les bacilles soumis à l'action du liquide pleural donnent une culture abondante le 26^e jour seulement. Les 4 jours de contact avec le liquide pleural ne les ont pas tués, mais ont diminué leur vitalité.

3^{me} Série. — Centrifugée après 7 jours de contact. Les bacilles témoins donnent une abondante culture le 20^e jour. Les bacilles soumis à l'action du liquide pleural n'ont donné aucune culture en 60 jours. On doit donc admettre qu'ils sont morts.

4^e, 5^e, 6^e et 7^e Séries. — Confirment les résultats donnés par la 3^{me} série. Au delà des 7 jours de contact, entre 0 cmc. 5 de liquide pleural et 2.000 bacilles, les microbes ont perdu tout pouvoir végétatif.

3° CONCLUSIONS

Les constatations que nous venons de relater, montrent que la fixation sur le bacille de Koch des corps bactéricides, se fait avec lenteur et progressivement. Nous pouvons résumer ces constatations de la manière suivante :

1° Les corps bactéricides du liquide pleural mis en présence d'une quantité déterminée de microbes dans des proportions telles que ces microbes doivent être tués, ne produisent cette action qu'après 7 jours de contact, microbes et corps bactéricides étant dilués dans de l'eau peptonée glycinée. Après ce laps de

temps, les microbes centrifugés et repiqués en milieu non bactéricide ne donnent aucune culture, alors qu'une même quantité de microbes témoins soumis à la même centrifugation et repiqués dans les mêmes conditions, donne toujours une culture abondante avant 20 jours. Il faut donc 7 jours pour permettre aux corps bactéricides d'imprégner et produire leur effet sur le bacille de Koch.

2° Des proportions de bacilles tuberculeux et de liquide pleural, semblables à celles que nous avons décrites plus haut, étant mises en contact pendant 24 heures seulement, le repiquage après centrifugation des bacilles, montre que leur végétabilité n'a subi aucun dommage.

3° Il n'en est pas de même, si l'on pousse jusqu'à 4 jours ce temps de contact. Ces 4 jours ne suffisent pas à provoquer une imprégnation suffisante des germes, en corps bactéricides, pour les tuer. Par contre, il est évident que les corps microbiens ont subi une certaine lésion, car ils sont retardés dans leur culture. Ce dernier fait démontre que l'imprégnation des substances bactéricides se fait non seulement avec lenteur mais encore de manière progressive.

Nous faisons remarquer que ces constatations vérifient de manière détournée les faits qu'avaient démontré les expériences décrites dans les chapitres I et II. Nous avons dit que le retard de culture était dû à la fixation sur le microbe, de substances bactéricides, à doses plus faibles que celles qui le tuent, et non à l'intervention de substances différentes, anti-végétatives et retardantes. Nous avons donc reconnu

une même cause au phénomène bactéricide vrai et au retard de culture. Dans les expériences décrites aux chapitres I et II, nous avons constaté les effets retardants dans le cas où un trop grand nombre de bacilles était soumis à l'action de 0cmc. 5 de liquide pleural. Dans l'expérience que nous venons de rapporter dans ce dernier chapitre, l'imprégnation partielle du bacille a été obtenue non plus par augmentation de la dose de microbes, mais par limitation du temps d'action du pouvoir bactéricide. On peut donc dire que ces deux ordre de faits se recoupent entre eux, et qu'arrivant au même résultat, par des méthodes différentes, l'hypothèse que nous avons formulée, ainsi vérifiée, est rendue plus solide.

Enfin, nous faisons remarquer, que ces faits attestent la grande résistance du bacille tuberculeux aux actions bactéricides, auxquelles il est soumis. Cette grande résistance, rend impossible l'application pour le calcul du pouvoir bactéricide, de la méthode des plaques que Nicolle, Jouan et Debains, ont pu appliquer à certains microbes tels que le bacille typhique pour mesurer le pouvoir des immun-sérums. Ces auteurs font d'ailleurs remarquer textuellement qu'on ne saurait appliquer la méthode des plaques à l'étude des propriétés bactéricides des sérums à l'égard du bacille de Koch. Les constatations que nous rapportons, en montrant la puissance de résistance du bacille tuberculeux confirment cette manière de voir. Il est évident, en effet, que la mise en contact du bacille avec le liquide pleural, durant une ou même quelques heures, serait totalement insuffisante à provoquer

une altération quelconque des germes ensemencés. Le repiquage sur les plaques ne montrerait donc aucune différence entre les bacilles soumis à l'action bactéricide et les bacilles témoins. Nous avons vu qu'il faudrait que ce contact dure au moins 7 jours. Or, dans ces conditions, à moins de faire agir des quantités énormes de liquide pleural, ou des quantités infimes de bacilles de Koch, le pouvoir bactéricide serait saturé par le développement microbien et le repiquage sur les plaques ne donnerait aucun résultat intéressant. Nous croyons donc que le pouvoir bactéricide doit être mesuré par des procédés différents, que nous allons exposer dans la II^{me} partie de notre travail.

DEUXIÈME PARTIE

Mesure du Pouvoir bactéricide

CHAPITRE PREMIER

Technique

Le procédé de mesure du pouvoir bactéricide que nous allons exposer est basé sur les constatations que nous avait permis de faire l'étude du pouvoir bactéricide et les observations que nous avons rapportées dans la 1^{re} partie. Nous avons vu, en effet, que la présence du liquide pleural dans les milieuxensemencés avec les cultures homogènes de Bacille de Koch, provoquait un retard de culture et que ce retard de culture paraissait dépendre d'un certain rapport entre la quantité de liquide pleural utilisée et le nombre de bacilles ensemencés. Plus explicitement, le retard de

culture est proportionnel à la quantité de substance bactéricide, et en raison inverse du nombre de bacilles ensemencés. Il est évident que si, pour ces expériences de mesure, on emploie toujours les mêmes quantités de microbes, qu'on les fasse cultiver durant un laps de temps toujours le même, qu'on emploie enfin des quantités connues de liquide pleural toujours identiques, on pourra caractériser le pouvoir bactéricide d'un liquide pleural à étudier par la dilution contenant la plus faible quantité de liquide pleural susceptible de provoquer un retard de culture appréciable. Tel est le principe sur lequel est basée la méthode employée en 1898 par Paul Courmont pour la mesure du pouvoir bactéricide des épanchements pleuraux, et que nous avons utilisée.

Nous ensemençons avec une goutte de culture homogène de bacille tuberculeux, 4 tubes à culture du type ordinaire, contenant des doses croissantes de liquide pleural en dilution dans de l'eau peptonée glycinée.

Un cinquième ne contenant que de l'eau peptonée glycinée est également ensemencé dans les mêmes conditions et destiné à servir de témoin. C'est en jugeant par transparence de l'intensité de la culture dans les tubes contenant du liquide pleural et en les comparant à ce témoin que nous jugeons si la végétation est ou non entravée dans le tube envisagé. Les cinq tubes contiennent chacun une masse liquide totale de 5 cmc. Le tableau suivant résume ces dilutions :

Tableau des Dilutions

	1 ^{er} tube (1/8)	2 ^e tube (1/4)	3 ^e tube (1/2)	4 ^e tube (1)	5 ^e tube (témoin)
e pleural	1/8 de 5 cmc.	1/4 de 5 cmc.	1/2 de 5 cmc.	5 cmc.	0 cmc.
on	7/8 de 5 cmc.	3/4 de 5 cmc.	1/2 de 5 cmc.	0 cmc.	5 cmc.
de culture	1 goutte	1 goutte	1 goutte	1 goutte	1 goutte
	5 cmc.	5 cmc.	5 cmc.	5 cmc.	5 cmc.

Les tubes ainsi préparés sont placés à l'étuve à + 37° et agités chaque jour de manière à rendre la culture bien homogène, surtout dans les tubes contenant du liquide pleural, où elle a une tendance nette à s'agglutiner dans les premiers temps.

Les tubes sont observés tous les jours et les résultats notés le 5^e, le 10^e et le 15^e jour.

A chaque examen, les tubes sont regardés par transparence et comparés au témoin. Tantôt les quatre tubes contenant du liquide pleural dilué sont demeurés plus clairs que le témoin de bouillon pur. Tantôt un ou plusieurs tubes qui sont ceux qui contiennent la plus faible dose de liquide pleural, sont aussi troubles que le témoin; alors que les tubes contenant une dose plus forte sont demeurés plus clairs que le témoin. L'action du pouvoir bactéricide est caractérisée le jour de l'examen par *le tube qui contient le moins de liquide pleural dans le groupe de ceux dont la culture est demeurée inférieure à celle du témoin.*

Ex. : le tube au $1/8$ est aussi trouble que le témoin; les tubes au $1/4$, au $1/2$ et le tube de liquide pleural pur sont demeurés plus clairs que ce même témoin. C'est le tube au $1/4$ qui caractérise à cette date le pouvoir bactéricide.

Nous convenons que le tube contenant 5 cmc. de liquide pleural pur constitue l'unité de pouvoir bactéricide. Dans ces conditions, l'énergie du pouvoir bactéricide doit être évidemment caractérisée par le chiffre inverse de la dilution du liquide pleural, dans le tube contenant le moins de ce liquide, parmi ceux où l'action bactéricide se manifeste. Le pouvoir bactéricide sera donc chiffré de la manière suivante : 1 pour le tube de liquide pleural pur; 2 pour la dilution au $1/2$; 4 pour la dilution au $1/4$; 8 pour la dilution au $1/8$.

En notant ces chiffres, le 5^e, le 10^e et le 15^e jour, on obtient 3 nombres généralement décroissants, qui caractérisent le pouvoir bactéricide d'un liquide pleural à l'égard du bacille de Koch.

TECHNIQUE

1° SOUCHE DE BACILLE TUBERCULEUX UTILISÉE

Nous nous sommes servis pour lesensemencements d'un bacille tuberculeux poussant en culture parfaitement homogène (B. Humain, A. de S. Arloing et P. Courmont).¹

Les bacilles qui poussent agglutinés ou en voile sont, en effet, inutilisables, parce qu'ils ne donnent pas dans le bouillon ce trouble homogène qui permet

de juger par transparence, de manière assez exacte de l'intensité de la végétation microbienne dans les tubes en expérience.

La rapidité de culture du bacille tuberculeux est très différente suivant les souches utilisées. Nous avons pu constater des décalages de plusieurs jours, en repiquant à la même dose des bacilles humains cultivés cependant depuis de longues années, en culture homogène. Par contre, une même souche repiquée depuis très longtemps en eau peptonée glycinée, pousse à peu de chose près, dans le même délai, sous les conditions suivantes : le bouillon utilisé doit contenir la même peptone et avoir la même réaction. La quantité de microbes ensemencée doit être exactement la même.

Pour toutes ces raisons, nous avons toujours commencé 1 goutte ($1/20$ de cmc.) d'une culture homogène âgée d'un mois du bacille A de l'Institut bactériologique de Lyon. Cette souche nous permet dans ces conditions d'obtenir régulièrement en 4 à 5 jours, un trouble net du bouillon témoin. Au bout d'une quinzaine de jours, ce trouble est intense et homogène et le bouillon ressemble à une urine de cystite purulente.

2° MILIEUX DE CULTURE

C'est l'eau peptonée glycinée préparée suivant la formule suivante :

Peptone Defresne	10 gr.
Glycérine	40 gr.
Na Cl	5 gr.
Eau	1.000 gr.

Dissoudre à chaud à 100°. Alcaliniser avec une solution de soude de manière à ce que le bouillon soit presque neutre. Précipiter le bouillon en chauffant 20 minutes à 120°. Filtrer. Stériliser à 107° 20 minutes. Répartir en ballons.

Il est important de ne jamais changer la peptone à laquelle le bacille est accoutumé de longue date. La souche que nous utilisons, pousse dans les délais indiqués, en peptone Defresne à laquelle elle est habituée; par contre, les milieux à la peptone de White, favorables pour d'autres souches, conviennent moins bien pour le A.

3° PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DU LIQUIDE PLEURAL

Ce liquide doit être prélevé dans des conditions d'asepsie absolue. Les mêmes précautions doivent être mises en jeu que dans un prélèvement de sang pour hémoculture.

On pratique une ponction exploratrice avec une seringue de 20 cmc. Le liquide est réparti dans deux tubes à essai.

Au moment de répartir le liquide pleural dans les tubes d'expérience, il sera nécessaire dans le cas des pleurésies séro-fibrineuses, de retirer le caillot, après l'avoir agité aseptiquement sans le briser. Il est pratique d'utiliser une pipette courbée en crochet à son extrémité à la flamme du bec Bunzen. Elle est enfoncée jusqu'au fond du tube, en suivant la paroi de verre et en décollant le caillot. On opère ensuite une série de mouvements de circumduction et on arrive ainsi à enrouler le caillot en vrille autour de l'extré-

mité de la pipette et à le retirer sans en laisser le moindre fragment et après l'avoir exprimé.

Si l'on expérimente un épanchement apparu dans un pneumothorax, il est parfois plus ou moins trouble, et il faut alors le laisser sédimenter pour décanter aseptiquement le liquide clair surnageant. Dans les cas où le sérum doit être ainsi conservé quelques jours, il faut éviter l'exposition à la lumière qui diminue le pouvoir bactéricide.

4° DILUTION ET ENSEMENCEMENT

Les tubes à culture utilisés doivent être parfaitement calibrés entre eux; on juge, en effet, par transparence de l'intensité de la culture en la comparant au témoin. Il faut, par conséquent, qu'elle soit observée sous le même diamètre dans chaque tube en expérience.

On procède aux dilutions de la manière suivante :

Sur chacun des 5 tubes, un trait indique le niveau des 5 cmc. qui constituent le total du liquide. Un autre trait placé au-dessous, indique dans les tubes au 1/8, au 1/4 et au 1/2 le niveau supérieur de l'eau peptonée glycinée. Ces préparatifs faits, il ne reste plus qu'à remplir de bouillon, à la pipette, jusqu'au premier trait les tubes de dilution et le témoin. On complète ensuite avec du liquide pleural le niveau total.

Il faut s'assurer par un séjour de 48 heures à l'étuve de la non contamination des liquides; on ensemente ensuite et l'on maintient à $+ 37^{\circ}$.

5° LECTURE DES RÉSULTATS

Les cultures sont examinées, comme nous l'avons dit, les 5^e, 10^e et 15^e jour. On note à chaque examen le tube contenant le moins de liquide pleural, dans lequel s'est manifestée l'action bactéricide; ce qu'on détermine en le comparant à la culture témoin. Pour cela, les tubes sont placés sur un rang et regardés par transparence en pleine lumière sur un fond noir. Mais il est nécessaire auparavant, de les agiter fortement afin de rendre le trouble parfaitement homogène.

Deux causes d'erreur très différentes sont à prendre en considération dans la lecture des résultats.

a) La contamination d'un ou plusieurs tubes. Elle se manifeste la plupart du temps par l'apparition d'un voile microbien caractéristique, mais surtout par l'existence d'un trouble marqué, apparu dans le bouillon dans les trois premiers jours, trouble qui n'est certainement pas dû au bacille tuberculeux plus long à se développer.

Parfois cependant certains mycéliums se développent lentement, absolument comme le ferait le bacille de Koch. Il est donc nécessaire dans tous les cas, à la fin d'une expérience de mesure, de prélever une goutte de chaque tube et de la colorer par la méthode de Ziehl. Ces préparations, difficiles à fixer pour l'eau peptonée glycinée pure, sont facilitées par la présence du liquide pleural qui sert en quelque sorte de colle. Les bacilles de contamination se caractérisent par leur forme et leur manque d'acido-résistance. Il

ne faut cependant pas prendre pour des contaminations les bacilles de Koch ayant perdu l'acido-résistance et recolorés en bleu. On les reconnaît facilement à leur forme caractéristique, et grâce à ce fait qu'ils sont nettement entremêlés en feutrage à des bacilles acido-résistants. Dans les cas douteux, il faudra repiquer une goutte du milieu en bouillon ordinaire où le bacille de Koch ne se développera pas ou très lentement.

b) Les liquides pleuraux très fibrineux donnent parfois un précipité floconneux qui peut faire croire à une culture abondante et vicier l'interprétation des résultats. Ce trouble est cependant facile à distinguer du trouble microbien. Les flocons se rassemblent au fond du tube et quand ils s'élèvent par agitation, ils affectent un aspect neigeux ou filamenteux. Mais surtout cette précipitation s'opère principalement dans le liquide pleural pur et dans la dilution au 1/2. Elle est, par contre, insignifiante dans les tubes au 1/4 et au 1/8. Or, dans le cas de végétation du bacille de Koch, ce serait précisément ces tubes au 1/8 et au 1/4 qui devraient être les plus troubles.

Enfin, cette précipitation s'opère dans les premiers jours, avant que la culture ait eu le temps de se produire. Le phénomène doit être noté à ce moment, de façon à être pris en considération dans la lecture ultérieure des résultats.

Au total, si l'on hésitait en quelque manière, le prélèvement et la coloration d'un de ces filaments, montreraient qu'il ne s'agit pas d'un feutrage de bacilles de Koch et l'ensemencement peut trancher la difficulté.

CHAPITRE II

Discussion de la Technique utilisée

La technique que nous venons d'exposer n'est, en somme, pas une technique directe de la mesure du pouvoir bactéricide, puisqu'elle ne repose pas sur l'observation de la quantité de microbes que le liquide observé peut tuer. Elle est au contraire une technique détournée, basée sur l'observation d'une modalité du pouvoir bactéricide, agissant sur une quantité trop grande de bacilles pour pouvoir les tuer. Il nous faut donc justifier l'emploi de cette technique et montrer qu'elle ne recèle pas de cause d'erreur importante capable de fausser la mesure du pouvoir bactéricide.

A. — La technique idéale consisterait évidemment à chiffrer le pouvoir bactéricide en nombre de microbes tués par une quantité déterminée de liquide pleural. Cette technique est facile à imaginer.

Nous savons que la quantité de bacilles qu'un liquide tuberculeux, normalement bactéricide, peut

tuer est de 2.000 quand on utilise 0 cmc. 5 de liquide pleural. Pour cette dose de liquide pleural à partir de 10.000 bacillesensemencés, les microbes ne sont plus tués. Par conséquent, en ensemençant une série de tubes contenant chacun 0 cmc. 5 du liquide pleural à étudier, dilué dans 5 cmc. de bouillon, avec 500, 1.000, 2.000, 3.000 bacilles, etc., jusqu'à 10.000 bacilles, on peut fixer à 1.000 bacilles près le pouvoir bactéricide de l'unité 0 cmc. 5 de l'épanchement envisagé.

Il est possible que cette technique puisse être utile et applicable dans certains cas. Cependant nous l'avons laissée de côté pour les raisons suivantes.

Chaque expérience demande un temps considérable. En effet, la faible quantité de bacillesensemencés ne donne de culture apparente qu'après un délai assez long dans les témoins. Dans les tubes bactéricides, la période qui précède l'apparition de la culture est encore augmentée par la présence du liquide pleural et devient ainsi très longue. Pour s'assurer que le pouvoir bactéricide s'est bien véritablement manifesté dans certains tubes, et pour s'assurer que les bacilles y sont bien véritablement tués, il faut attendre plus d'un mois.

Des mesures opérées dans de semblables conditions demanderaient donc un temps considérable, et un matériel également considérable. De semblables recherches perdraient d'autre part tout intérêt clinique, du fait de leur longueur. Les quelques applications cliniques que l'on peut tirer de la mesure du pouvoir bactéricide pour le diagnostic et le pronostic des épanchements tuberculeux perdraient donc beaucoup de leur valeur.

Les manipulations nécessaires à la dilution et à l'ensemencement du bacille tuberculeux sont longues et compliquées. Elles comportent une perte de temps qui limiterait certainement le champ des observations.

Enfin et surtout, la rigueur mathématique de cette méthode est peut-être plus apparente que réelle. La dilution microbienne est effectuée avec des doses infimes de bacilles. Or, il faut savoir que les souches les plus homogènes contiennent presque toujours quelques microbes agglutinés, en plus ou moins grand nombre. Leur répartition dans le liquide est donc parfois assez inégale. Les chiffres très précis de pouvoir bactéricide, que nous obtiendrions en le mesurant sur des quantités si faibles de bacilles ainsiensemencées, comporteraient donc un coefficient d'erreur élevé qui rendrait cette précision toute fictive.

Le procédé que nous préconisons, présente au contraire, sur cette dernière technique des avantages qui s'opposent aux différents défauts que nous lui reprochons. Ce sont la rapidité des manipulations, la certitude d'obtenir un résultat définitif en quinze jours. Surtout, le nombre des microbesensemencés dans chaque tube, n'étant pas obtenu par dilution, est à peu près égal partout. Ce nombre de bacilles étant, d'autre part, infiniment plus élevé, le coefficient d'erreur numérique devient insignifiant.

La technique que nous utilisons présente donc dans le domaine pratique, des avantages indiscutables. Cependant, on peut lui reprocher comme nous l'avons dit, d'être une mesure détournée du pouvoir bactéri-

cide, basée sur l'observation d'une certaine modalité d'action de ce pouvoir bactéricide; aussi est-on en droit de se demander si elle répond bien au but poursuivi et si les chiffres qu'elle donne sont véritablement proportionnels au pouvoir bactéricide des épanchements étudiés.

B. — Nous avons montré dans la première partie de ce travail un fait qui sert en quelque sorte de substratum à la mesure du pouvoir bactéricide, telle que nous l'avons pratiquée. Les substances bactéricides du liquide pleural, n'ont pas tendance à se fixer sur un minimum de microbes, pour produire sur eux leur action maxima, c'est-à-dire la mort et peut-être la lyse du microbe. Tout au contraire, tout se passe comme si ces substances imprégnaient l'ensemble de la culture et manifestaient alors leurs propriétés antibiotiques, par des effets (retard de culture) proportionnels à la quantité répartie sur chaque micro-organisme. Le résultat visible de cette imprégnation est une hypo-végétation, un retard de culture, par rapport au témoin. Le nombre de jours de décalage, entre la culture du témoin et celle du tube bactéricide, semble, en somme, caractériser la dose de substances bactéricides, fixées sur chaque individualité microbienne.

Ce procédé de mesure n'est donc pas si indirect qu'on pourrait le penser. Il rend au contraire manifeste l'imprégnation des microbes en expérience, en substances bactéricides, par un phénomène concret d'observation grossière.

C. — Nous aurions pu utiliser, pour caractériser ce

retard de culture, la numération des microbes, dans les tubesensemencés à une date déterminée, et comparer ainsi tubes bactéricides et tubes témoins. Ces numérations sont longues et difficiles; elles comportent des causes d'erreur considérables. Il est infiniment plus simple et plus sûr de comparer par transparence le tube additionné de liquide pleural à un témoinensemencé le même jour. Cette observation permet, sans aucune manipulation, et avec un minimum de causes d'erreur, de caractériser le nombre de jours de retard, qu'apporte à la progression de la culture, l'action du pouvoir bactéricide. Ce nombre de jours peut, en effet, être calculé par l'intervalle de temps qui sépare l'apparition de la culture dans le témoin et l'égalisation des troubles entre le témoin et le tube contenant du liquide pleural.

D. — Pourquoi n'avons-nous pas choisi, pour caractériser le pouvoir bactéricide, des chiffres correspondant aux jours de retard de culture, provoqués par une quantité déterminée de liquide pleural, sur une certaine quantité de bacillesensemencés ? Nous préférons caractériser ce pouvoir bactéricide par des chiffres de dilution (et cela, grâce à l'artifice que nous exposerons) pour des raisons pratiques. Disons d'ailleurs que les chiffres que nous utilisons, tout en correspondant à des taux de dilution, expriment cependant, comme on le verra, des retards de culture. Nous avons chiffré le pouvoir bactéricide, d'après des dilutions, pour la raison que le fait de chiffrer ce pouvoir bactéricide en jours de retard, nous aurait contraint à utiliser un type de *dilution unique*,

Or, cette manière de procéder, présenterait de graves inconvénients. La dilution au $1/8$ de liquide pleural en bouillon, provoque pour les liquides franchement bactéricides, un retard de culture de plusieurs jours. Mais, par contre, quand il s'agit de liquides moins bactéricides, cette dilution est saturée par les microbes ensemencés, et pousse aussi vite que le témoin. L'observation unique de la dilution au $1/8$ ferait donc admettre l'absence de pouvoir bactéricide dans le liquide étudié. Ce serait totalement inexact, car le pouvoir bactéricide de ce liquide peut se manifester avec des dilutions au $1/4$ ou au $1/2$.

Si, pour obvier à cet inconvénient, on n'employait que des dilutions au $1/2$, des difficultés pratiques d'un autre ordre se présenteraient. Les liquides fortement bactéricides provoquent avec la dilution au $1/2$ des retards de culture considérables qui allongeraient le temps d'expérience, de manière telle que la mesure du pouvoir bactéricide serait dans ces cas vraiment peu pratique et trop longue. Ces forts pouvoirs bactéricides sont plus rapidement caractérisés dans les dilutions au $1/8$, qu'il faut donc utiliser.

Pour rendre pratique la mesure du pouvoir bactéricide, il fallait donc que la technique utilisée réponde aux conditions suivantes : qu'elle constitue une mesure du temps de retard, que cette mesure soit pratiquée sur différentes dilutions, qu'elle soit faite enfin dans un temps limité.

E. — Pour faire entrer en ligne de compte dans nos opérations de mesure, le facteur temps, nous avons fixé une limite définie à chaque opération,

limite fixée empiriquement à 15 jours. C'est, en effet, au bout de 15 jours que le témoin présente un trouble très marqué et toujours cependant parfaitement homogène.

La quantité de microbesensemencée dans chaque tube étant fixe, le temps de culture étant fixe aussi, les dilutions étant d'autre part variables : $1/8$, $1/4$ et $1/2$, c'étaient ces chiffres de dilution, seul élément variable, en quelque sorte, de l'observation, qui devaient servir à chiffrer le pouvoir bactéricide. C'est ainsi que nous avons été amené à caractériser ce pouvoir par le chiffre de dilution le plus faible de liquide pleural qui a suffi à provoquer un retard de culture, qui différencie le trouble de cette dilution de celui du témoin. On voit donc, qu'en définitive, le pouvoir bactéricide, tout en étant caractérisé par des chiffres de dilution, est cependant mesuré par un retard de culture dont nous croyons avoir établi qu'il était proportionnel à la quantité de substances bactéricides agissant sur le bacille tuberculeux.

CHAPITRE III

Causes d'erreur (Discussion)

Est-il certain, étant donnée la technique employée, que le retard de culture soit bien le fait du seul pouvoir bactéricide ? D'autres causes, purement physiques ou chimiques, n'interviennent-elles pas dans la production de ce phénomène ? Il nous semble qu'il faut envisager quatre causes d'erreurs matérielles possibles :

a) Modification par l'addition du liquide pleural de la réaction du milieu.

b) Faibles qualités nutritives du liquide pleural pour le bacille, rendant l'ensemble du milieu hyp nutritif.

c) Modification de la concentration en sels.

d) Existence dans le liquide pleural de substances toxiques étrangères au phénomène d'immunisation.

A) RÉACTION DU MILIEU. — Le bacille de Koch est cultivé dans des milieux liquides, dont la réaction

chimique est à peu près neutre ou légèrement alcaline. Un bouillon qui ne répond pas complètement à cette condition peut retarder pendant quelques jours l'apparition du premier trouble, et rendre la végétation plus maigre.

Les exsudats organiques répondent, en général, au point de vue réaction chimique aux conditions que nécessitent les cultures microbiennes. Ces liquides exsudés du milieu intérieur, présentent la plupart du temps une réaction neutre, légèrement alcaline qui est la plus favorable à la vie normale de toutes les cellules, animales ou microbiennes. Les épanchements pleuraux utilisés pour nos observations, ont été d'ailleurs examinés au papier de tournesol. Ils ne provoquaient aucun virage.

On peut donc admettre que l'addition d'une certaine quantité de ces liquides au bouillon de culture, n'est pas susceptible d'en changer la réaction dans des proportions importantes. (1).

B) NUTRITION. — Les albumines des épanchements pleuraux sont-elles assimilables pour le bacille de Koch ? Si les albumines ne sont pas assimilables, le liquide pleural se comporte à l'égard du bacille com-

(1) D'ailleurs des expériences précises de P. Courmont, Morel et Bay ont prouvé récemment (17 mai 1926) que le bacille homogène humain (précisément l'échantillon A que nous avons employé) pousse facilement dans des bouillons dont le pH peut présenter de très grandes variations (de 6,2 à 4,9). *P. Courmont, Morel et Bay*. Sur les modifications de la réaction de l'azote ammoniacal dans les cultures homogènes de bacille tuberculeux humain A en milieu défini à base d'ammoniaque. *C. R. Soc. de Biol.*, 17 mai 1926.

me un milieu inerte qui dilue les substances nutritives. Il peut donc provoquer ainsi une diminution de la végétabilité par hyponutrition.

Il n'est pas certain du tout qu'en dehors du tube de liquide pleural pur la quantité de bouillon contenue dans les tubes au $1/8$, au $1/4$ et au $1/2$ ne soit pas suffisante pour assurer le développement maximum du bacille pendant 15 jours.

Mais quoi qu'il en soit, nous croyons que l'on n'est pas en droit de dénier au liquide pleural une forte valeur nutritive. Nous tirons à ce point de vue un argument important des cultures de bacille de Koch, pratiquées dans les épanchements cardiaques, dès 1898, par Paul Courmont, que nous avons fréquemment renouvelées. Le bacille se développe dans ces liquides avec une très grande facilité, sans avoir besoin d'autres substances nutritives que celles qui lui sont fournies par cet exsudat. Puisque les épanchements d'hydro-thorax cardiaque permettent au bacille tuberculeux de se développer, pourquoi les épanchements tuberculeux auraient-ils une valeur nutritive plus faible ? Les travaux déjà très anciens de Méhu, confirmés plus récemment par Mosny, Javal et Dumont, accordent aux hydrothorax cardiaques 30 gr. d'albumine par litre, alors que les pleurésies séro-fibrineuses en contiennent de 50 à 70. Nous croyons que si les pleurésies tuberculeuses ne contenaient pas des corps bactéricides, elles constitueraient un milieu favorable au développement du bacille de Koch. Nous l'avons d'ailleurs démontré, en faisant disparaître le pouvoir bactéricide des pleurésies

tuberculeuses, en le saturant par la culture du bacille tuberculeux.

C) MODIFICATION DE LA CONCENTRATION EN SELS. — L'argument fourni dans la question des albumines, par les pleurésies cardiaques est aussi valable pour la question de la concentration en sels:

On peut d'ailleurs admettre que cette concentration qui varie de 5 à 9 gr. par litre ne saurait apporter une gêne marquée au développement du bacille, parce qu'elle se rapproche trop sensiblement de celle des bouillons.

Les phosphates et les carbonates de soude contenus dans le liquide pleural s'y trouvent en quantités trop insignifiantes pour leur accorder une véritable importance. Nous n'en parlons ici que parce qu'ils sont signalés dans les analyses de liquide pleural.

D) SUBSTANCES TOXIQUES ET SUBSTANCES SPÉCIALES AUX LIQUIDES TUBERCULEUX. — Les nucléo-albumines de Patein, précipitables à froid, par l'acide acétique (réaction de Rivalta) et surtout ces substances toxiques pour l'animal, substances inconnues qui tuent le cobaye, quand on lui injecte 10 gr. de liquide pleural par 100 gr. de poids animal, sont-elles capables d'agir sur le bacille de Koch ? Il est possible que ces substances soient toxiques aussi pour le bacille de Koch. Dans ce cas, nous ne pouvons pratiquement les différencier des substances bactéricides que nous étudions, si leur action est identique. Toutefois, il est logique d'admettre qu'elles doivent se comporter à

l'égard du bacille, comme les antiseptiques chimiques. Il devient alors difficile d'expliquer des faits que nous exposerons plus loin, telle que la disparition du pouvoir bactéricide par la culture du bacille de Koch dans le milieu ensuite filtré et aussi ce fait, plus probant peut-être, que l'action bactéricide ne paraît pas diminuer par une certaine dilution de liquide en bouillon, alors que la dilution affaiblit en général le pouvoir des antiseptiques.

Il semble donc que l'on puisse admettre qu'il ne doit exister dans notre technique aucune cause d'erreur matérielle, susceptible de fausser le résultat de la mesure d'un pouvoir bactéricide, vraisemblablement en rapport avec un phénomène d'immunité locale.

CHAPITRE IV

Classement des résultats de mesure du pouvoir bactéricide des liquides pleuraux

La mesure du pouvoir bactéricide, par la technique que nous avons détaillée, a été effectuée pour 12 liquides de pleurésies séro-fibrineuses tuberculeuses, 19 liquides d'hydro-pneumothorax tuberculeux, enfin 3 pleurésies cardiaques. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux ci-dessous. Nous avons groupé à part chaque type de pleurésie. Nous avons de plus groupé pour chaque type de pleurésie les liquides dont le pouvoir bactéricide était caractérisé par des chiffres qui les rapprochaient. Nous donnons dans ces tableaux non seulement le chiffre définitif obtenu le 15^e jour, et caractérisant le pouvoir bactéricide, mais encore les chiffres intermédiaires, notés le 5^e et le 10^e jour, qui ont un certain intérêt.

1^o Pleurésies séro-fibrineuses à pouvoir fort (8 et 4)

	Foug.	Trun. 2	Baudr.
5 ^e jour	8	8	8
10 ^e jour	8	8	4
15 ^e jour	8	8	4

2^o Pleurésies séro-fibrineuses à pouvoir moyen (2)

	Vid. 1	Vid. 2	Vid. 3	Trun. 1	Migl.	Rob.	Chase.
5 ^e jour	8	4	8	8	8	8	4
10 ^e jour	4	4	4	4	4	4	4
15 ^e jour	2	2	2	2	2	2	2

3^o Pleurésie séro-fibrineuse à pouvoir faible (1)

	Koc.	Merc.
5 ^e jour	8	4
10 ^e jour	2	2
15 ^e jour	1	1

4^o Hydro-Pneumothorax à pouvoir fort (8 et 4)

	Houcl.	Colli. 1	Dup.	Nav.	Ferr.	Rey R.	Vel. 2	Vuail.	Colli. 2
5 ^e jour	8	8	8	8	8	8	8	8	8
10 ^e jour	8	8	8	8	8	8	4	8	8
15 ^e jour	8	8	8	8	4	4	4	8	8

5° Hydro-Pneumothorax à pouvoir moyen (2)

	Vel. 1	Grand. 1	Ber.	Beun.	Med.	Grand. 2	Del.	Ross.	Col.
5 ^e jour	8	8	8	8	8	8	8	8	4
10 ^e jour	4	4	8	4	4	4	2	2	4
15 ^e jour	2	2	2	2	2	2	2	2	2

6° Hydro-Pneumothorax à pouvoir faible (1)

	Farg.
5 ^e jour	2
10 ^e jour	1
15 ^e jour	1

7° Pleurésies cardiaques

	Pl. S.	Gab.	Berth.
5 ^e jour	8	2	2
10 ^e jour	2	0	0
15 ^e jour	0	0	0

L'examen de ces tableaux synoptiques, au point de vue statistique, montre les faits suivants :

1° PLEURÉSIES SÉRO-FIBRINEUSES TUBERCULEUSES. — Sur 12 liquides étudiés, 3 avaient un pouvoir bactéricide de 8 ou de 4, ce qui constitue des chiffres de pouvoir bactéricide fort. 7 présentaient un pouvoir bactéricide de 2. Enfin 2 sur 12 seulement, avaient un

pouvoir bactéricide n'atteignant que 1, chiffre qui doit être considéré comme faible. Le chiffre de 2, apparaît donc comme un chiffre moyen, caractérisant le pouvoir bactéricide de la majorité des pleurésies séro-fibrineuses. Les pouvoirs de 8 et de 4 sont une minorité, nous devons les classer dans la catégorie des pouvoirs forts; enfin les pouvoirs de 1 sont de beaucoup les moins nombreux et doivent donc être considérés comme nettement faibles.

2° L'EXAMEN DES TABLEAUX CONCERNANT LES HYDRO-PNEUMOTHORAX, montre que d'une manière générale, le pouvoir bactéricide de ces épanchements est supérieur à celui d'une pleurésie séro-fibrineuse. Sur 19 liquides étudiés, nous avons rencontré un pouvoir bactéricide fort à 8 ou à 4 dans 9 cas. Nous n'avons trouvé un pouvoir bactéricide moyen que dans 9 cas, et un seul cas seulement présentait un pouvoir bactéricide faible.

3° LES PLEURÉSIES CARDIAQUES présentent un pouvoir bactéricide insignifiant, qui n'est en rien comparable à celui des pleurésies tuberculeuses. Si le 5^e et le 10^e jour, elles paraissent pouvoir diminuer dans une certaine mesure, la culture du Bacille de Koch, dans les 3 cas étudiés cependant, ce pouvoir bactéricide était égal à 0, le 15^e jour. Ces trois observations confirment les résultats rapportés par M. Paul Courmont dans sa première étude de l'action bactéricide des épanchements pleuraux sur les cultures de bacilles de Koch. On ne saurait s'étonner de voir ces

pleurésies posséder une ébauche de propriété bactéricide. On sait, en effet, que le sérum normal d'individus non immunisés, présente toujours de légères propriétés bactéricides à l'égard de la plupart des microbes pathogènes. Ces propriétés se retrouvent également dans les extraits leucocytaires d'animaux non immunisés. Mais, de plus, il est certain que la plèvre de certains sujets atteints de pleurésie cardiaque, a pu subir autrefois des atteintes tuberculeuses. Elle a donc pu s'immuniser et nous retrouvons dans l'épanchement asystolique les traces de cette immunisation ancienne.

Cette manière de voir est confirmée par l'existence d'un léger pouvoir agglutinant à l'égard du bacille de Koch, du liquide des pleurésies cardiaques. C'est ainsi que nous ferons remarquer que la pleurésie Pl... S... qui paraissait avoir quelques propriétés anti-tuberculeuses agglutinait le bacille de Koch au taux de + 5, alors que les deux autres pleurésies ne l'agglutinaient pas du tout. Il est infiniment probable que si l'on faisait des recherches sur le pouvoir bactéricide d'un grand nombre de pleurésies cardiaques, on en trouverait peut-être qui posséderaient un pouvoir bactéricide se rapprochant de celui des pleurésies tuberculeuses.

Nous-même avons observé une pleurésie chez un asystolique, pleurésie uni-latérale qui s'est résorbée très rapidement après une seule ponction, et qui possédait un pouvoir bactéricide de 8.

Le liquide pleural de ce malade agglutinait le bacille de Koch à + 5, et de plus, il présentait la réac-

tion de déviation du complément en présence d'un antigène tuberculeux. Il s'agissait donc d'un épanchement, donnant des réactions d'immunité très nettes à l'égard du bacille de Koch. Nous n'avons pas fait état de cette observation parce que nous avons beaucoup de peine à la classer et que l'évolution clinique et les divers examens pratiqués ne permettent pas d'affirmer qu'il s'agit certainement d'une pleurésie non tuberculeuse. Cette observation montre simplement qu'il existe des épanchements chez les asystoliques présentant les réactions des pleurésies tuberculeuses et qui sont peut-être des pleurésies tuberculeuses. Question de doctrine qu'il sera sans doute bien difficile de trancher, est-ce une pleurésie tuberculeuse, est-ce une pleurésie dans une plèvre immunisée contre la tuberculose ? L'inoculation elle-même ne pourrait peut-être pas trancher cette question, attendu qu'il s'agit de pleurésies bénignes qui, bien souvent, ne tuberculisent pas le cobaye.

4° Nous voulons faire maintenant quelques remarques sur la courbe que donne la notation du pouvoir bactéricide dans les cultures le 5^e, le 10^e et le 15^e jour.

Dans le cas des pleurésies séro-fibrineuses tuberculeuses, on voit que la courbe la plus fréquemment observée est 8—4—2. Toutefois, ce n'est pas une loi générale, que cette décroissance régulière. Tous les types peuvent être observés dans une pleurésie séro-fibrineuse bactéricide à 2. Un autre type peut être observé, celui de 4—4—2 (2 cas). Si l'on observe d'autre part des hydro-pneumothorax, on voit que ces

courbes sont encore plus variées. Si le type 8—4—2 dans les cas de pouvoir bactéricide moyen est le plus fréquent, on observe aussi 4—4—2 et 8—8—2. Pourtant d'autre part nos regards sur les tableaux de pleurésies séro-fibrineuses et d'hydro-pneumothorax à pouvoir bactéricide fort, nous observons la même variabilité dans la décroissance du pouvoir bactéricide : 8—8—4 ou 8—4—4. Même diversité quand il s'agit des pouvoirs bactéricides faibles à 1. On observe en effet 8—2—1, 4—2—1, 2—1—1. Il semble donc qu'on ne puisse établir aucune règle fixe de décroissance du pouvoir bactéricide, et alors le chiffre noté le premier jour ne permet pas de préjuger de celui qu'on notera le second, et encore moins du chiffre définitif.

Il était nécessaire de faire cette constatation, car on aurait pu espérer réduire le temps d'observation de 15 jours, à 10, ou même à 5 jours, si, observant un type de décroissance toujours le même, on avait pu, d'après le premier ou les deux premiers chiffres, préjuger des suivants. La notation exacte du pouvoir bactéricide nécessite donc une observation de 15 jours. Le seul chiffre intéressant est le troisième; les deux premiers ne sont notés que pour mémoire et pour permettre d'interpréter de manière plus exacte le résultat définitif, qui présente quelquefois pratiquement, certaines difficultés qui ne peuvent être étudiées ici et dont on se rendra compte si l'on pratique des mesures de pouvoir bactéricide. Tout ce que l'on peut tirer de la connaissance du premier chiffre noté le premier jour, c'est que s'il est inférieur à 4,

il est vraisemblable que le pouvoir bactéricide sera très faible. Mais dans le cas où ce chiffre est de 8 ou de 4, il ne donne aucune indication certaine. On peut-être, cependant, tirer des premiers chiffres une notion de nuance entre des liquides présentant le même pouvoir bactéricide. C'est ainsi qu'il est probable qu'un liquide qui a donné les chiffres 8—8—2, est plus bactéricide qu'un liquide qui a donné 8—4—2, qui l'est lui-même plus qu'un liquide ayant donné 4—4—2 ou même 4—2—2. C'est pourquoi il vaut mieux noter le pouvoir bactéricide par 3 chiffres que par un seul, mais, à condition de classer surtout le pouvoir bactéricide d'après le dernier chiffre qui consacre en somme le résultat définitif de cette lutte qui a été engagée entre le pouvoir bactéricide et le bacille.

TROISIÈME PARTIE

Action des agents physiques et biologiques sur le pouvoir bactéricide des liquides pleuraux

Introduction

La connaissance de ces propriétés permettra de manipuler avec plus de certitude le liquide pleural, dans les expériences de mesure du pouvoir bactéricide. Mais ce n'est pas là le but principal qui nous a amené à entrer dans la voie de cette étude. Le liquide pleural nous apparaît maintenant, comme un véritable sérum anti-tuberculeux, contenant des substances qui tuent le bacille de Koch, et qui, d'autre part, ne sont vraisemblablement pas nocives pour l'homme. Nous trouvons dans le liquide pleural un processus curateur de la tuberculose qui mérite d'être étudié. Il a été mis à profit, avec des succès très variables, pour le traitement de la tuberculose chez l'homme ou chez l'animal. Mais son emploi a provoqué plus d'inconvénients qu'il n'apportait d'avantages. Sa

toxicité, la production d'abcès froids (1), les accidents anaphylactiques qu'il provoque, le rendent plus dangereux qu'utile dans le traitement de la tuberculose. Cependant, si par une connaissance plus exacte de ces substances bactéricides, on arrivait à dissocier en quelque sorte, leur action bienfaisante, des actions nocives qui l'accompagnent, peut-être trouverait-on, dans le liquide pleural des pleurésies tuberculeuses, un adjuvant sérieux pour le traitement de certaines tuberculoses. Péron(2), le premier croyons-nous, paraît avoir réussi à ralentir l'évolution d'une tuberculose, inoculée à l'animal. Jousset, a reproduit avec succès ces expériences sur un certain nombre d'animaux de laboratoire, et il a même utilisé le liquide pleural tyndalisé (ce qui diminuait certainement ses propriétés nocives) dans le traitement des pleurésies graves, pratiquant dans ce cas, non plus l'auto-sérothérapie, mais l'hétéro-sérothérapie (3). Il injectait des liquides de pleurésies bénignes, en vue de la guérison des pleurésies graves. Jousset avait vu, en effet, que ce sont les pleurésies bénignes qui possèdent les propriétés curatrices les plus remarquables, en inoculant à des cobayes, des doses croissantes de liquide pleural, expériences dans lesquelles, les animaux inoculés avec des quantités moyennes de liquide, étaient plus facilement tuberculisés, que ceux qui avaient reçu de fortes doses. Les résultats obtenus avec les pleurésies

(1) V. CORDIER, *Soc. de Thérapeutique*, déc. 1919.

(2) PÉRON, « Recherches sur les tuberculose de la plèvre », *Thèse de Paris*, 1896.

(3) JOUSSET, « Considérations sur le pronostic et le traitement des pleurésies séro-fibrineuses bacillaires. L'hétéro-sérothérapie », *Rev. de la Tub.*, 1920, p. 307.

graves, étaient inverses, et le nombre de tuberculoses expérimentales provoquées par l'injection de ces liquides croissait au contraire, avec la dose injectée.

Perkins, Young et Meck (1) ont tenté le traitement de la tuberculose pulmonaire, au moyen d'injections sous-cutanées de liquide pleural. Ces différents essais ne paraissent pas avoir été suivis par une longue pratique. L'utilisation du liquide pleural comme sérum curateur, a certainement apporté plus de déboires, qu'il n'a donné de succès. Mais on peut se demander si l'on n'aurait pas obtenu de véritables succès en essayant de tuer dans ces liquides pleuraux les bacilles virulents qu'ils contiennent, en essayant de faire disparaître leur pouvoir toxique, en essayant d'éviter les accidents anaphylactiques, tout cela étant fait, sans diminuer par les manipulations nécessaires les propriétés curatrices, le pouvoir bactéricide du liquide pleural. C'est par l'étude des propriétés physiques, chimiques et biologiques des substances bactéricides, qu'on atteindra ce but, s'il peut être atteint, et c'est pourquoi nous avons tenté quelques expériences dans le sens que nous venons d'indiquer.

Au point de vue physique, nous avons étudié les effets de la dilution sur l'activité des substances bactéricides, les effets du vieillissement, du chauffage et de la filtration. Au point de vue biologique, nous avons étudié la saturation par les cultures et les rapports qui peuvent exister entre le pouvoir bactéricide des épanchements pleuraux et leurs autres propriétés biologiques.

(1) PERKINS, YOUNG et MECK, « Hétéro-sérothérapie dans la tuberculose pulmonaire », *The Lancet*, 27 sept. 1919.

CHAPITRE PREMIER

Effet de la dilution sur l'activité du Pouvoir bactéricide

Les observations déjà exposées montrent que le retard de culture provoqué par la présence du liquide pleural, dans un bouillonensemencé avec du bacille de Koch, varie pour une même dose de liquide pleural, diluée dans 12 volumes de bouillon ; selon la quantité de microbesensemencés. Pour de faibles quantités de bacilles, on obtient l'arrêt complet du développement microbien ; pour des quantités plus fortes, la culture est seulement retardée, et le retard est d'autant plus marqué, que le nombre des microbesensemencés est plus faible.

Le phénomène provoqué par l'addition de liquide pleural à une culture, dépend donc essentiellement du rapport existant entre le nombre de microbes et les quantités de liquide pleural.

Il faut éclaircir le rôle joué par le bouillon dans lequel le liquide pleural est dissous. Cette dilution

est-elle indifférente, ou bien, au contraire, affaiblit-elle l'action bactéricide, comme la dilution d'un anti-septique en affaiblit l'énergie ?

Pour élucider cette question, nous avons fait les épreuves suivantes.

1° PRINCIPE. — Les quantités de liquide pleural et de bacilles contenues dans les tubes qui seront observés, sont les mêmes. Par contre, la dilution varie dans chacun de ces tubes.

Chaque tube contient : liquide pleural Rob... 1 cmc. et bacilles de Koch : 4 millions. Le taux de dilution varie de 1/2 à 1/6. Le tableau des dilutions est le suivant :

2° L. pl=1 cmc.; B.K.=4 millions; bouillon=1 cmc.
2° L. pl=1 cmc.; B.K.=4 millions; bouillon=2 cmc.
3° L. pl=1 cmc.; B.K.=4 millions; bouillon=3 cmc.
4° L. pl=1 cmc.; B.K.=4 millions; bouillon=4 cmc.
5° L. pl=1 cmc.; B.K.=4 millions; bouillon=5 cmc.
6° L. pl=1 cmc.; B.K.=4 millions; bouillon=6 cmc.

2° RÉSULTATS. — Les tubes ont été mis à l'étuve à + 37°. On fait les observations suivantes :

5° jour. — Très légère culture, à peine appréciable, apparue dans les 6 tubes.

7° jour. — Trouble très léger dans les 6 tubes. Le maximum de trouble siège dans le tube 1. Ce trouble va en décroissant jusqu'au tube 6. Il semble que la même quantité de microbes ait poussé dans chaque tube et que, par conséquent, l'opacité soit pour cette raison, en proportion inverse de la quantité de liquide

contenue dans le tube considéré. En égalisant le niveau dans les 6 tubes, par addition de bouillon, on obtiendrait un trouble égal dans chaque tube.

10^e jour. — Mêmes constatations.

15^e jour. — L'opacité maxima est toujours celle du tube 1, contenant la plus faible quantité de liquide et, par conséquent, le liquide pleural le moins dilué. Il existe toujours une gradation décroissante entre les 6 tubes, le tube le moins opaque étant toujours celui qui contient le plus de bouillon, et par conséquent, le liquide pleural le plus dilué. Le nombre des microbes ayant poussé dans chaque tube, paraît sensiblement égal, les différences d'opacité sont en rapport simplement avec la différence de quantité de liquide dans chaque tube.

18^e jour. — Ces différences sont en train de s'estomper, mais sont cependant encore visibles.

CONCLUSION. — La dilution en bouillon du liquide pleural, entre les limites de 1/2 et 1/6, n'a pas affaibli l'action du pouvoir bactéricide qui paraît insensible à la dilution, tout au moins pour les taux que nous avons employés. Dans chaque tube s'est développé du 5^e au 18^e jour, un nombre de microbes sensiblement équivalent malgré la différence existant entre la quantité de bouillon qui leur était fournie dans chacun de ces tubes. Seule la différence entre les masses liquidiennes existant dans chacun de ces tubes provoquait des différences d'opacité. Le tube contenant le plus de bouillon était le plus clair. Après 18 jours de culture, ces différences persistaient. Non

seulement il faut admettre que le pouvoir bactéricide du liquide pleural n'est pas affaibli par la dilution en bouillon, mais ces faits montrent encore nettement que la végétation microbienne dans les retards de culture provoqués par le liquide pleural, dépend du rapport établi entre la quantité de substances bactéricides et la quantité de microbes ensemencés, et que la quantité de bouillon dans laquelle ces microbes se développent n'a que peu d'influence sur cette végétation. On peut comparer les substances bactéricides et les microbes qui leur sont soumis à deux armées qui luttent en champ clos. Le résultat de la bataille dépend du nombre des soldats de chaque armée, et la victoire de l'un ou l'autre parti n'est pas influencée par l'étendue du champ clos où les deux partis se rencontrent.

L'action bactéricide du liquide pleural se révèle différente de celle qu'aurait par exemple sur le bacille de Koch, un antiseptique chimique. Les antiseptiques chimiques sont, en effet, d'autant moins actifs, qu'ils sont plus dilués. Cette constatation est en faveur de l'hypothèse qui nous fait admettre que l'activité bactéricide du liquide pleural est une propriété biologique et non une simple propriété chimique.

Il apparaît donc clairement que dans les différentes dilutions au $\frac{1}{2}$, au $\frac{1}{4}$, au $\frac{1}{8}$ que nous utilisons pour étudier le pouvoir bactéricide, le bouillon diluant ne joue en quelque sorte, qu'un rôle passif. Il sert à établir un niveau égal dans chaque tube et permet de juger ainsi, par transparence en comparant les tubes entre eux, du plus ou moins grand

développement microbien dans les témoins et les tubes bactéricides. Les retards de culture observés, sont en rapport avec la plus ou moins grande masse de liquide pleural qu'ils contiennent ; ils ne sont pas influencés par les dilutions au $1/2$, au $1/4$ ou $1/8$, dilutions qui sont sans action sur le pouvoir bactéricide.

CHAPITRE II

Effet du vieillissement sur le Pouvoir bactéricide

Parmi les substances bactéricides connues, les unes, telle que l'Alexine du sérum, sont très sensibles au vieillissement. Les autres telles que les leucolysines extraites des globules blancs, sont plus résistantes et se conservent infiniment plus longtemps. L'alexine est à peu près entièrement détruite après 14 jours dans le sérum, alors que certains extraits leucocytaires sont encore bactéricides après 8 mois.

Notre maître, le Professeur P. Courmont, nous a souvent fait remarquer combien le liquide pleural se modifie d'aspect sous l'influence du vieillissement, ou d'une simple exposition à la lumière. Ce liquide, en général d'un beau jaune ambré, ou parfois quand il s'agit d'hydro-pneumothorax, de couleur absinthe, un peu laiteux, perd peu à peu cette coloration par lyse des pigments et peut devenir parfois « eau de roche ». Il paraît aussi moins visqueux, plus fluide.

Ces altérations d'aspect correspondent-elles à une diminution du pouvoir bactéricide ?

La plupart des liquides sur lesquels nous avons pratiqué nos recherches, ont étéensemencés très rapidement après la ponction. D'autres, parfois, ont attendu jusqu'à un mois avant d'être utilisés. Ces liquides étaient conservés à l'ombre, mais non à la glacière.

1° PLEURÉSIES SÉRO-FIBRINEUSES

Quatre d'entre elles ont été étudiées, 5 jour après la ponction.

1 était bact. à 4

2 » » 2

1 » » 1

Trois étaient âgées de 6 à 7 jours depuis la ponction :

2 étaient bact. à 8

1 » » 1

Cinq étaient âgées de 13 à 22 jours depuis la ponction :

1 était bact. à 4

4 » » 2

2° HYDROPNEUMOTHORAX

Trois étaient âgés de 2 jours depuis la ponction :

1 était bact. à 4

2 » » 2

Deux étaient âgés de 7 à 9 jours depuis la ponction :

1 était bact. à 4

1 » » 2

Cinq étaient âgés de 14 à 20 jours depuis la ponction :

2 étaient bact. à 4

3 » » 2

Un était âgé de 31 jours depuis la ponction :

Il était bact. à 1.

L'examen de cette statistique semble démontrer que le pouvoir bactéricide n'est pas très sensible au vieillissement d'un mois, lorsque le liquide n'est pas exposé à la lumière. En tous cas, il prouve que même si ce pouvoir a baissé, il n'a cependant pas été entièrement détruit.

Nous plaçant dans des conditions expérimentales plus précises, nous avons fait vieillir des liquides exposés à la lumière du jour dans le laboratoire (lumière tamisée par le verre des carreaux qui arrête en partie les rayons U. V.), durant un temps connu. Nous avons pu ainsi comparer très exactement le pouvoir bactéricide du même liquide frais et vieilli.

PREMIER CAS

*Liquide R. (pleurésie séro-fibrineuse)
vieilli un mois à la lumière*

Ce liquide était à peu près entièrement décoloré. Nous comparons, dans le tableau ci-dessous, les

chiffres de pouvoir bactéricide fournis après des temps égaux de culture par le liquide frais et le liquide vieilli :

	Liquide frais	Liquide vieilli 1 mois
4 ^e jour	Bact. : 8	Bact. : 4
7 ^e jour	Bact. : 3	Bact. : 4
12 ^e jour	Bact. : 2	Bact. : 2
21 ^e jour	Bact. : 1	Bact. : 1
29 ^e jour	Bact. : 1	Bact. : 1

DEUXIÈME CAS

Liquide M. (pleurésie séro-fibrineuse), vieilli 8 mois
Ce liquide était entièrement décoloré.

	Liquide frais	Liquide vieilli 8 mois
4 ^e jour	Bact. : 4	Bact. : 2
6 ^e jour	Bact. : 2	Bact. : 2
10 ^e jour	Bact. : 2	Bact. : 2
18 ^e jour	Bact. : 1	Bact. : 1
27 ^e jour	Bact. : 0	Bact. : 0

Liquide B. (pleurésie cardiaque), vieilli 8 mois
Liquide entièrement décoloré.

	Liquide frais	Liquide vieilli 8 mois
3 ^e jour	Bact. : 2	Bact. : 0
6 ^e jour	Bact. : 1	Bact. : 0
10 ^e jour	Bact. : 0	Bact. : 0

CONCLUSIONS

Les tableaux que nous donnons montrent que le pouvoir bactéricide, après 1 mois et 8 mois de vieillissement à la lumière et décoloration du liquide, n'a pas fortement baissé.

L'abaissement porte surtout sur les chiffres notés dans les cinq ou six premiers jours. A partir du quinzième jour, on note des chiffres identiques. Les propriétés bactéricides des liquides pleuraux subissent donc l'effet du vieillissement, mais seulement dans de faibles proportions, puisque les chiffres observés après 8 mois de vieillissement sont presque superposables à ceux que donne le liquide frais.

Ces constatations prouvent qu'on peut attacher à peu près la même importance aux chiffres que nous avons obtenus en étudiant des liquides frais prélevés depuis 3 à 4 jours, ou, au contraire, des liquides déjà vieillis par un séjour de 15 à 20 jours dans le laboratoire, à l'abri de la lumière.

Surtout, il est intéressant de savoir que, dans le cas où l'on arriverait, par un certain vieillissement, à faire disparaître les propriétés toxiques à l'égard de l'animal du liquide pleural, ce liquide conserverait cependant des propriétés curatrices qui seraient d'autant plus intéressantes, au point de vue thérapeutique, qu'elles ne seraient pas contre-balançées par la toxicité du liquide pleural et que ce liquide pourrait être injecté à doses plus élevées.

CHAPITRE III

Effets du chauffage entre 56° et 60° sur le pouvoir bactéricide du liquide pleural

L'Alexine est rendue inactive par le chauffage à + 56° une demi-heure. Le sérum d'un lapin immunisé contre les globules rouges de mouton est capable, s'il est employé frais et non chauffé, d'hémolyser ces globules. Par contre, le même sérum, porté à la température de + 56° une demi-heure, est *inactivé* et ne produit plus l'hémolyse.

Il suffit d'ajouter à ce sérum inactivé une certaine dose de sérum frais et non chauffé prélevé sur un cobaye neutre non immunisé contre les globules de mouton, pour rendre au sérum hémolytique toute son activité et provoquer dans ces nouvelles conditions l'hémolyse des globules rouges de mouton. Cette hémolyse est donc opérée par une substance existant dans tous les sérums, immuns ou non, c'est l'Alexine. Par contre, elle est incapable de se fixer d'elle-même

sur l'antigène et ne manifeste ses propriétés bactéricides ou hémolytiques que par l'intermédiaire de substances sensibilisatrices que l'immunité fait apparaître dans le sérum et qui sont thermostabiles. Cependant, la véritable substance bactéricide est bien l'Alexine thermolabile à $+ 56^{\circ}$.

Ce n'est pas la seule substance bactéricide connue d'ailleurs... On sait que les extraits de globules blancs, les extraits de ganglions, de thymus, de rate, possèdent des bactériolysines qui sont différentes de l'Alexine par certains points, et en particulier par cette particularité qu'elles sont thermostabiles et résistent à des températures dépassant de beaucoup $+ 56^{\circ}$. Ces substances paraissent d'autre part être de véritables équivalents de l'Alexine et sont susceptibles de rendre aux sérums, inactivés par le chauffage, leur pouvoir bactéricide (1). Il n'en demeure pas moins qu'au point de vue physique, alexine du sérum et équivalent des extraits leucocytaires diffèrent par leur résistance à la chaleur (2).

Les substances bactéricides du liquide pleural sont-elles, à ce point de vue, assimilables à l'Alexine ou aux extrats leucocytaires ?

Nous avons mis en évidence une première propriété, qui rapproche les substances bactéricides du liquide pleural des extraits leucocytaires, c'est la résistance au vieillissement.

(1) LEVADITI, *Ann. Inst. Past.*, 1901, t. XV, p. 894.

WOLLMANN, *Ann. Inst. Past.*, 1913, t. XXVII, p. 1.063.

(2) D'ailleurs, ces expériences de réactivation des sérums au moyen des extraits leucocytaires, ne réussissent pas dans tous les cas. SCHNEIDER, loc. cit. ; KORSCHUM, *Ann. Inst. Past.*, 1908, t. XXII, p. 586.

L'Alexine se détruit en effet en une quinzaine de jours. Or, nous avons montré que le liquide pleural conserve ses propriétés bactéricides pendant un laps de temps qui peut aller jusqu'à 8 mois. Ce point, qui sépare ce genre de substances bactéricides de l'Alexine, les rapproche au contraire des extraits globulaires qui résistent précisément au vieillissement dans des limites semblables. Schneider (1) a vu que les « Leukines » de cobaye agissent encore sur le bacille d'Eberth après 9 mois de séjour à la glacière.

1° LES EXPÉRIENCES DE CHAUFFAGE que nous rapportons ont été pratiquées sur quatre liquides pleuraux. Ce sont trois liquides d'hydro-pneumothorax et un liquide de pleurésie séro-fibrineuse.

Chacun de ces liquides a été divisé et réparti en deux séries. Une série a subi le chauffage entre $+ 56^{\circ}$ et $+ 60^{\circ}$, une demi-heure ; l'autre série a été conservée intacte.

Nous avons préparé, dans chaque série, quatre tubes, selon la technique décrite (dilutions $1/8$, $1/4$, $1/2$, 1).

Les deux séries ont étéensemencées le même jour dans les mêmes conditions, de façon à pouvoir observer parallèlement, dans les liquides chauffés et non chauffés, l'action produite sur le bacille tuberculeux.

2° LES RÉSULTATS OBSERVÉS ONT ÉTÉ LES SUIVANTS :

I. — LIQUIDE 1 (HYDRO-PNEUMOTHORAX)

5^e jour

a) Liquide normal. Pouvoir bact. = 8.

b) Liquide chauffé à $+ 56^{\circ}$. Pouvoir bact. = 8.

(1) SCHNEIDER. *Arch. für Hyg.*, 1909, T. VII, p. 40.

Note. — Même pouvoir bact. le 5^e jour. Cependant, le liquide normal présente, dans la dilution au 1/8, un léger trouble, qu'on ne voit pas dans le liquide chauffé.

10^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à 56°. Pou. bact. = 8.

15^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 4.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

II. — LIQUIDE 2 (HYDRO-PNEUMOTHORAX)

5^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

10^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

15^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

III. — LIQUIDE 3 (HYDRO-PNEUMOTHORAX)

5^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

10^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

15^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

IV. — LIQUIDE 4 (PL. SÉRO-FIBRINEUSE)

5^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 8.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

10^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 4.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 8.

15^e jour

- a) Liquide normal. Pou. bact. = 2.
- b) Liquide chauffé à + 56°. Pou. bact. = 4.

3° CONCLUSIONS. — Sur les quatre liquides que nous avons étudiés, deux sont fortement bactéricides. Ils ne donnent, en 15 jours, aucune culture dans le tube de dilution la plus faible en liquide pleural, c'est-à-dire le tube au 1/8 (liquides 3 et 2).

Le chauffage à 56° n'a pas diminué le pouvoir bactéricide dans ces deux cas.

Les deux autres épanchements (1 et 4) ont un pouvoir bactéricide plus faible que les précédents et ont donné une culture dans les tubes contenant le moins de liquide pleural.

Le quinzième jour, le liquide non chauffé présente un indice de pouvoir bactéricide de 4, alors que le même liquide chauffé a un indice plus fort = 8. Le

liquide 4 offre, le 15^e jour, un indice bactéricide encore plus faible de 2 dans les tubes non chauffés, alors que les tubes chauffés à + 56 sont plus fortement bactéricides et que leur indice est de 4.

Nous concluons donc que le chauffage à la température de + 56°, non seulement n'altère pas le pouvoir bactéricide, mais encore semble l'augmenter.

Semblable constatation est difficile à interpréter. L'hypothèse la plus conforme aux connaissances que nous avons sur le pouvoir bactéricide des sérums tend à faire admettre la destruction par le chauffage de substances empêchantes du pouvoir bactéricide sur l'existence desquelles Nicolle, Jouan et Debains ont attiré l'attention dans leur travail sur le pouvoir bactéricide (1). Rien ne s'oppose théoriquement à ce qu'on admette l'existence, dans le liquide pleural, de substances thermolabiles antibactéricides, en l'absence de toute autre explication.

Nos observations nous permettent en somme de conclure :

1° Que le pouvoir bactéricide des épanchements pleuraux est indépendant de l'existence de l'Alexine.

2° Le caractère thermostable des substances bactéricides étudiées les rapproche, de même que leur résistance au vieillissement des « leukines » extraites des globules blancs. Ces leukines, ainsi que l'ont montré différents expérimentateurs (Schattenfroh,

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1919.

Pettersson, Werbitzki, Korschin, Kling, Levaditi et Yamanouchi) (2), résistent au chauffage à 56° et ne se détruisent qu'à des températures très supérieures et qui diffèrent d'ailleurs selon l'origine animale de ces extraits.

(2) Loc. cit. in LEVADITI, *Les bactériolysines leucocytaires dans leurs rapports avec l'Alexine*. « Bulletin de l'Institut Pasteur » 1914.

CHAPITRE IV

Filtrabilité des substances bactéricides du liquide pleural

La filtrabilité a permis à Ehrlich et Morgenroth (1) d'établir, en utilisant les bougies Pukall, qu'une partie de l'Alexine du sérum filtre à travers ces bougies, alors qu'une autre partie est retenue. Ils ont ainsi pu établir la pluralité du complément. Vedder (2), Pirenne (3), ont fait les mêmes constatations au moyen de bougies Berkfeld et Chamberland. Petterson (4) a montré que l'Alexine traverse en partie les bougies Pukall, mais que ces bougies retiennent les bactériolysines extraites des globules blancs.

(1) EHRLICH et MORGENROTH, « Berl. Klin. Woch. », 1910, n° 31.

(2) VEDDER. « Journ. of Med. Res. », 1903, T. IX.

(3) PIRENNE. « Centralblatt f. Bakt. I origin. ». T. XXXVI, 1904, p. 256.

(4) PETTERSON. « Centralblatt f. Bakt. I origin. T. XLVI, 1908, p. 405.

La filtrabilité varie donc, comme l'ont montré ces auteurs, suivant la nature physique des substances bactéricides.

Les substances bactéricides des épanchements pleuraux paraissent, à ce point de vue, se diviser en deux classes : les substances filtrant sur bougie Chamberland, et les substances retenues par ces mêmes bougies.

Les deux expériences suivantes le mettent en évidence.

I. — FILTRATION SUR BOUGIE CHAMBERLAND, L. III

Le liquide utilisé est un hydro-pneumothorax (Nav...), dont le pouvoir bactéricide est de 8-8-4.

Une partie de ce liquide a été filtrée sur bougie Chamberland L. III, l'autre a été conservée intacte. Le pouvoir bactéricide a été mesuré parallèlement dans les deux liquides ainsi dissociés.

5^e jour

- a) Liquide normal. Pouv. bact. = 8.
- b) Liquide filtré. Pouv. bact. = 4.

10^e jour

- a) Liquide normal. Pouv. bact. = 8 faible.
- b) Liquide filtré. Pouv. bact. = 4.

15^e jour

- a) Liquide normal. Pouv. bact. = 4 fort.
- b) Liquide filtré. Pouv. bact. = 4 faible.

II. — FILTRATION SUR BOUGIE CHAMBERLAND L. V

Le liquide utilisé est l'hydro-pneumothorax Coll..

Une partie est filtrée sur bougie Chamberland L. V, l'autre est conservée intacte.

Le pouvoir bactéricide est noté parallèlement dans les deux liquides ainsi dissociés.

5^e jour

a) Liquide normal. Pouv. bact. = 8.

b) Liquide filtré. Pouv. bact. = 4.

10^e jour

a) Liquide normal. Pouv. bact. = 8.

b) Liquide filtré. Pouv. bact. = 4.

15^e jour

a) Liquide normal. Pouv. bact. = 8.

b) Liquide filtré. Pouv. bact. = 0.

3^e CONCLUSIONS

Cette expérience montre évidemment que le pouvoir bactéricide des liquides pleuraux est nettement diminué par la filtration sur bougie Chamberland.

Une partie des substances bactéricides est retenue par la bougie, alors qu'une autre partie filtre. Ce phénomène est la cause de l'affaiblissement du pouvoir bactéricide dans le filtrat et de sa conservation partielle.

Faut-il en déduire qu'il existe deux types de substances bactéricides dans le liquide pleural ? Substan-

ces dissociées par la filtration ? Ce serait donner à ces expériences une signification qu'elles ne comportent pas forcément. Il est en effet possible que les substances bactéricides ne se trouvent pas libres, mais au contraire accolées à certaines albuminoïdes. La non filtrabilité d'une partie de ces albuminoïdes explique alors l'arrêt, au niveau de la bougie, d'une partie des substances bactéricides retenues avec leur support physique. Cette hypothèse, invoquée par Levaditi (1), contre les partisans de la dualité des principes bactéricides des sérums et des extraits leucocytaires, basée sur la non filtrabilité de ces derniers, est également valable pour les constatations du même ordre faites sur les liquides pleuraux.

Un dernier point nous reste enfin à exposer. Nous avons proposé l'hypothèse de *substances anti-bactéricides* existant dans le liquide pleural, concurremment avec les substances bactéricides. Il semble, d'après quelques observations que nous avons réalisées, que ces corps empêchants soient doués de la propriété de filtrer. Nous avons en effet constaté que les filtrats de liquides pleuraux chauffés une demi-heure entre $+56^{\circ}$ et $+60^{\circ}$ sont plus bactéricides que les liquides filtrés, mais non chauffés, tout en demeurant moins bactéricides qu'un liquide normal, et a fortiori qu'un liquide non filtré et chauffé.

D'après cet ensemble de constatations, nous sommes amené à admettre (quelle que soit la véritable

(1) LEVADITI, « Les Bactériolysines leucocytaires dans leurs rapports avec l'Alexine », *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1914.

cause de ces faits) que le liquide pleural contient trois ordres de substances humorales :

1° *Substances bactéricides filtrant à travers les bougies Chamberland ;*

2° *Substances bactéricides ne filtrant pas à travers ces bougies ;*

3° *Substances antibactéricides paraissant filtrer en totalité.*

CHAPITRE V

Saturation par la culture du B. K. du pouvoir bactéricide des épanchements pleuraux

Nous avons constaté à plusieurs reprises que le bacille de Koch ne vaccine pas les bouillons dans lesquels on le cultive. Nous avons, en effet, filtré le bouillon de cultures homogènes de bacille de Koch, âgées d'un mois. Ces filtrats, ensemencés, ont fourni une végétation normale de bacilles, dans des délais normaux. Le développement microbien ne se trouve donc pas entravé, ni en quantité, ni en rapidité, par une culture antérieure.

Ces constatations nous ont permis de pratiquer des observations identiques sur les milieux rendus bactéricides par l'addition de liquide pleural. Ces expériences avaient pour but, non seulement de constater la non-vaccination de ces milieux, mais encore de déterminer si la culture du bacille de Koch, en milieu bactéricide, faisait disparaître ce pouvoir bactéricide

par saturation. Ces observations ont été faites dans les conditions expérimentales suivantes.

Du liquide de la pleurésie cardiaque S..., de la pleurésie séro-fibrineuse Baudr..., de l'hydro-pneumothorax Ber... a été dilué, selon notre technique habituelle ($1/8$, $1/4$, $1/2$, 1). Ces tubes ont étéensemencés et leur pouvoir bactéricide a été noté. Il était le suivant :

Pleurésie cardiaque S...	0-0-0
Pleurésie séro-fibrineuse Baudr....	8-4-4
Hydro-pneumothorax Bèr...	8-8-2

Les tubes ont été ensuite maintenus 1 mois à l'étuve. Après ce laps de temps, le liquide cardiaque présentait une culture équivalente à celle du témoin, dans les 4 tubes. Baudr... avait cultivé au $1/8$, au $1/4$ et au $1/2$. Mais le tube de liquide pleural pur n'avait pas poussé. Enfin, Ber... avait donné une culture dans les 4 tubes, plus faible cependant dans les tubes $1/2$ et 1.

Ces liquides furent éclaircis par centrifugation prolongée (la filtration était en effet inutilisable, puisqu'on sait qu'elle diminue le pouvoir bactéricide). Le liquide clair a été ensuiteensemencé avec 1 goutte d'une culture d'un mois.

1° RÉSULTATS.

5^e jour. — Le témoin de bouillon pur présente une culture abondante. Les 4 tubes de la pleurésie cardiaque ont poussé de la même manière que le témoin. Les tubes Ber... présentent aussi tous les 4 un trouble

parfaitement égal, de la même opacité que le témoin. Il semble donc que ces deux liquides ont perdu leurs propriétés bactéricides. Pour la pleurésie Baudr..., les résultats sont un peu différents. 3 tubes, 1/8, 1/4, 1/2 ont poussé également et ont un trouble égal à celui du témoin. Le tube de liquide pleural pur n'a pas poussé du tout.

20^e jour. — Le témoin de bouillon pur présente une culture très opaque. Les 4 tubes pleurésie cardiaque et les 4 tubes Bér... sont aussi troubles que ce témoin. Les 3 premiers tubes Baudr... présentent un trouble équivalent à celui du liquide cardiaque et du liquide Bér... Par contre, le tube de liquide pleural pur demeure clair.

La même expérience, recommencée dans les mêmes conditions, avec la pleurésie séro-fibrineuse Merc..., confirme ces résultats, le pouvoir bactéricide ayant été saturé par la culture dans les 4 tubes.

2^o CONCLUSIONS.

La culture du bacille de Koch, dans le liquide pleural, dans lequel a été préalablement cultivé ce même bacille de Koch, se produit avec la même rapidité qu'en bouillon glyciné pur. Non seulement aucun retard n'est constaté, mais encore, la culture est égale dans tous les types de dilution de liquide pleural. Il semble donc que le bacille de Koch sature ou détruit les substances bactéricides du liquide pleural. Il semble que ces substances agissent non par simple présence, mais par fixation définitive. Ce mode d'action est propre aux substances sécrétées

par l'organisme dans l'immunité (bactériolysines, agglutinines, opsonines, sensibilisatrices). Ces substances ayant pour caractère d'être saturées par une certaine quantité de microbes. Il y a là, une différence caractéristique entre les bactériolysines et les antiseptiques chimiques qui montre, une fois de plus, que le pouvoir bactéricide des épanchements tuberculeux est de nature, non pas chimique, mais humorale.

3° REMARQUE.

Un des tubes en expérience, le tube de liquide pleural pur, de la pleurésie Baudr..., n'a donné aucune culture. Ce fait n'est nullement contradictoire. En effet, les tubes $1/8$, $1/4$, $1/2$ avaient perdu tout pouvoir bactéricide. La manifestation du pouvoir bactéricide dans le dernier tube tenait simplement à ce que ce pouvoir n'avait pas été saturé. La première goutteensemencée n'avait pas cultivé du tout. Le taux de saturation n'était pas atteint.

CHAPITRE VI

Rapport du pouvoir bactéricide d'un liquide pleural avec son pouvoir agglutinant et la réaction de déviation du complément

Le pouvoir agglutinant des épanchements pleuraux tuberculeux n'est pas toujours parallèle à la réaction de déviation du complément.

Paul Courmont, étudiant à ce point de vue 18 cas d'épanchements pleurétiques consécutifs au pneumothorax artificiel, les décompose de la manière suivante : « Dans 9 cas, les deux réactions étaient concordantes, 1 fois dans le sens négatif, et 8 fois dans le sens positif, avec des variations plus ou moins grandes d'intensité, la déviation se faisant d'ordinaire jusqu'au quatrième tube (technique de Calmette-Massol), c'est-à-dire sans nuance, et l'agglutination variant au contraire beaucoup, de $1/5$ à $1/20$. Dans 5 observations, il y a eu discordance, l'agglutination étant négative, au moins à un certain moment de

l'évolution, tandis que la déviation du complément était constamment positive. Dans 2 cas, enfin, de pleurésie séro-fibrineuse, la déviation du complément a été positive et la séro-agglutination négative. » (1)

Les pleurésies que nous avons étudiées peuvent être rangées de la manière suivante, au point de vue de la concordance du séro-diagnostic tuberculeux et de la déviation du complément. Notre statistique est établie sur 18 cas, complètement étudiés au point de vue sérologique.

1° 12 cas sur 18 sont concordants dans le sens positif, au point de vue séro-agglutination et déviation du complément. L'agglutination varie de +5 à + 20. La déviation du complément (technique Calmette-Massol) donne une réaction positive dans les 4 tubes. Sur ces 12 cas, il y a 4 pleurésies séro-fibrineuses (4 sur 6 étudiées) et 8 épanchements au cours du Forlanini (8 sur 12 étudiés).

2° 1 seul cas est concordant dans le sens négatif, la séro-agglutination étant négative et la déviation du complément l'étant également. Il s'agit d'un hydro-pneumothorax.

3° 3 cas sont discordants, avec séro-agglutination positive au-dessus de + 5, et déviation du complément négative. Il s'agit de deux séro-fibrineuses et d'un hydro-pneumothorax.

4° 2 cas sont discordants, avec déviation du complément positive et séro-agglutination inférieure à + 5. Ces deux cas étaient des hydro-pneumothorax.

Il ressort de ces deux statistiques que la déviation

(1) P. COURMONT, « Des réactions humérales de la plèvre », Applications diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques, *Journal de Méd. de Lyon*, oct. 1922.

du complément et la séro-agglutination sont parallèles, dans la majorité des cas, mais que les faits de discordance sont cependant nombreux et peuvent se faire dans les deux sens possibles.

Comment se comporte, de son côté, le pouvoir bactéricide, par rapport à la séro-agglutination et la déviation du complément ?

Disons de suite que cette étude de concordance ne peut porter que sur les liquides à pouvoir bactéricide fort, et à pouvoir bactéricide moyen, pour des raisons d'opportunité. Les liquides à pouvoir bactéricide faible constituent, en effet, l'infime minorité des épanchements tuberculeux que nous avons étudiés : 2 cas sur 23 que contient cette statistique. Nous ne possédons des renseignements sérologiques complets que sur l'un d'entre eux. Pour le second, la réaction de déviation du complément n'a pas été pratiquée.

Voici comment se divisent les 23 cas étudiés :

1° 9 cas présentant un pouvoir bactéricide fort agglutinaient tous le bacille de Koch entre + 5 et + 20. *Tous présentaient la réaction de déviation du complément* (réaction de Calmette-Massol) *au taux de + 4*. Sur ces 9 cas, 3 agglutinaient le bacille de Koch à + 20. Faisons remarquer d'ailleurs qu'aucun des liquides doué d'un pouvoir bactéricide moindre n'agglutinait le bacille de Koch à un taux si élevé. Il semble qu'un pouvoir agglutinant aussi élevé comporte forcément, pour le liquide pleural, un pouvoir bactéricide également très élevé. Peut-être, observera-t-on le cas contraire, mais nous-mêmes ne l'avons jamais rencontré.

Les 6 autres cas peuvent être divisés de la manière suivante : 4 agglutinaient le bacille de Koch à + 10. 2 l'agglutinaient seulement à + 5.

2° Les 14 cas qui présentaient un pouvoir bactéricide moyen offraient, dans l'ensemble des réactions sérologiques *moins concordantes*. Aucun n'agglutinait à + 20. L'agglutination variait entre + 10 et 0. Dans plusieurs cas, si l'agglutination dépassait + 5, la déviation du complément était négative. Dans les autres cas, la déviation du complément était positive, mais le pouvoir agglutinant manquait. Nous divisons ces 14 cas de la manière suivante :

a) 10 cas avaient un pouvoir agglutinant entre + 10 et + 5. Mais 4 d'entre eux ne déviaient pas le complément, 4 autres le déviaient ; pour 2 cas, ce renseignement nous manque.

b) 4 cas n'agglutinaient pas le bacille de Koch à + 5. Sur ces 4 cas de faible pouvoir agglutinant, 2 déviaient le complément (discordance), 1 ne le déviait pas (concordance négative). Pour le quatrième, ce renseignement nous manque.

Surtout, faisons remarquer que, dans ces 14 cas de pouvoir bactéricide moyen, on n'a trouvé de concordance positive de la séro-agglutination et de la déviation du complément que dans 4 cas seulement sur 14 ; et dans ces 4 cas encore, ou bien la déviation du complément n'était positive que dans 3 tubes, ou bien la séro-agglutination n'était que de + 5. Un seul a présenté une concordance très franche, avec pouvoir agglutinant + 10 et déviation du complément + 4.

De ces constatations, nous pouvons déduire une loi générale (comportant peut-être de rares exceptions) : c'est que le pouvoir bactéricide élevé coïncide, en général, ainsi que nous l'avons déjà dit, avec des réactions sérologiques concordantes dans le sens positif. Le pouvoir agglutinant est de + 20 ou + 10 en général, et la déviation du complément est franchement positive. Le pouvoir bactéricide moyen coïncide avec un pouvoir agglutinant moins élevé + 10 ou + 5 et jamais + 20. Souvent, ces liquides présentent des réactions sérologiques discordantes : le pouvoir agglutinant ou la déviation du complément faisant défaut. Le seul cas de cette statistique dont le pouvoir bactéricide était faible, avait un pouvoir agglutinant de + 10, mais ne déviait pas le complément. Le tableau d'ensemble suivant, que nous avons divisé en trois parties : pouvoir bactéricide fort, pouvoir bactéricide moyen, pouvoir bactéricide faible, permettra de vérifier nos conclusions :

I. — POUVOIR BACTERICIDE FORT

A) PLEURÉSIES SÉRO-FIBRINEUSES

	Pouvoir bactéricide	Pouvoir agglutinant	Déviation du Complément
Foug.	8	+ 20	+ 4
Trun... II ...	8	+ 20	+ 4
Baudr...	4	+ 10	?

B) HYDRO-PNEUMOTHORAX

	Pouvoir bactéricide	Pouvoir agglutinant	Dévation du Complément
Heucl... ..	8	+ 10	+ 4
Colli... ..	8	+ 5	+ 4
Dup... ..	8	+ 5	+ 4
Navor... ..	8	+ 10	+ 4
Ferr... ..	4	+ 20	+ 4
Rey R.	4	+ 10	+ 4

II. — POUVOIR BACTERICIDE MOYEN

A) PLEURÉSIES SÉRO-FIBRINEUSES

	Pouvoir bactéricide	Pouvoir agglutinant	Dévation du Complément
Vid... I	2	+ 5	0
Vid... II	2	+ 10	0
Vid... III ...	2	+ 10	0
Trun... I	2	+ 10	+ 3
Migl... ..	2	+ 10	?
Rob... ..	2	+ 10	+ 3
Chass...	2	+ 10	?

B) HYDRO-PNEUMOTHORAX

	Pouvoir bactéricide	Pouvoir agglutinant	Dévation du Complément
Bér... ..	2	+ 3	+ 4
Véli 20/1 ...	2	+ 10	+ 4
Grand...	2	+ 3	?
Méd... ..	2	+ 5	0
Del... ..	2	+ 5	+ 4
Ross... ..	2	+ 3	+ 4
Beun... ..	2	0	0

III. — POUVOIR BACTERICIDE FAIBLE

PLEURÉSIES SÉRO-FIBRINEUSES

	Pouvoir bactéricide	Pouvoir agglutinant	Déviation du Complément
Koc... ..	1	+ 10	0
Merc... ..	1	+ 10	?

CHAPITRE VII

Etude parallèle du Pouvoir bactéricide à l'égard de 3 souches différentes (humaine et bovine)

Nous avons fait remarquer, au début de ce travail, que toutes nos expériences sur le pouvoir bactéricide des épanchements tuberculeux ont été faites en utilisant une seule et unique souche : la culture homogène de bacille de Koch A.

Afin de nous rendre compte si les observations faites en nous servant de cette souche pouvaient être généralisées à d'autres cultures homogènes de bacilles de Koch, nous avons étudié parallèlement l'action bactéricide d'un épanchement pleural séro-fibreux sur trois bacilles de Koch différents, mais poussant tous depuis longtemps en culture homogène (P. Courmont). La première souche utilisée était le A, qui a servi à nos expériences. La deuxième souche était également d'origine humaine (bacille tubercu-

leux Bald...). La troisième était une souche bovine (Bacille bovin K.). Le liquide pleural utilisé était le liquide Foug..., pleurésie séro-fibrineuse.

Nous avons préparé, selon la technique décrite, trois séries de tubes comprenant chacune une dilution au 1/8, au 1/4 et au 1/2 et un tube de liquide pleural pur. Un certain nombre de tubes témoins d'eau peptonée glycinée ont été également préparés. Chaque série estensemencée avec une goutte d'une culture d'un mois, d'une des trois souches indiquées.

RESULTATS OBSERVES

4^e JOUR

a) Témoin bouillon : le bacille A et la culture bovine présentent un léger trouble. La culture Bald... n'a pas poussé.

b) Pouvoir bactéricide :

Sur A.	8
Sur bovine K.....	8

7^e JOUR

a) Témoin bouillon : le bacille A et le bacille bovin présentent un trouble marqué. Le bacille Bald. a donné une culture plus légère.

b) Pouvoir bactéricide :

Sur A.	8
Sur bovine K.....	8
Sur Bald.	8

11^e JOUR

a) Témoin bouillon : les trois souches présentent une culture abondante.

b) Pouvoir bactéricide :

Sur A.	8
Sur bovine K.....	8
Sur Bald.	8

14^e JOUR

a) Témoin bouillon : cultures très opaques pour les trois souches.

b) Pouvoir bactéricide :

Sur A.	8
Sur bovine K.....	8
Sur Bald.	8

17^e JOUR

a) Témoin bouillon : cultures très troubles pour les trois souches.

b) Pouvoir bactéricide :

Sur A,.....	8
Sur bovine K.....	8
Sur Bald.	8

CONCLUSIONS

L'expérience montre nettement que l'action bactéricide du liquide pleural peut s'exercer parallèlement et au même taux, sur des cultures homogènes de différentes provenances : humaine et bovine. Il n'y a

a d'ailleurs là rien qui puisse étonner, puisque le bacille bovin n'est vraisemblablement que l'adaptation aux bovidés d'un bacille de même race que celui qui provoque l'infection tuberculeuse humaine. Mise à part cette question de doctrine, dont nous n'avons pas à traiter ici, il est vraisemblable que les observations que nous avons faites sur la souche unique qui a servi à nos expériences sont probablement valables pour un grand nombre d'autres souches, puisque l'action bactéricide d'un même liquide pleural s'est exercée de manière aussi énergique à l'égard de trois souches choisies au hasard, de provenances très diverses et dont l'une était d'origine bovine.

QUATRIÈME PARTIE

Application à la clinique de la mesure du pouvoir bactéricide des Pleurésies tuberculeuses

Nous avons groupé nos différentes observations de pleurésies séro-fibrineuses et d'hydro-pneumothorax tuberculeux, d'après leur pouvoir bactéricide. Ces observations sont seulement des résumés très succincts, dans lesquels nous insistons surtout sur l'évolution de la maladie.

I. — Pleurésies séro-fibrineuses

A. — *Pleurésies séro-fibrineuses à pouvoir bactéricide fort*

1° OBS. TRUN... (Prof. P. Courmont).

Pleurésie séro-fibrineuse à début aigu en *octobre* 1925. La défervescence de la fièvre est lente.

Fin décembre la température est à 37°5. Le malade à ce moment commence à se lever,

En décembre 1925, rechute et évolution nouvelle d'une pleurésie à grand épanchement, constituée par un liquide séro-fibrineux coagulant fortement.

La cytologie montre des globulès rouges, de nombreux lymphocytes, quelques polynucléaires et quelques cellules endothéliales. Présence d'un groupe très net de bacilles de Koch granuleux.

La température est élevée, entre 39° et 40°.

L'état général d'abord bien conservé, est atteint. Le malade maigrit et s'anémie.

Au mois de février, douleurs sous-hépatiques avec recrudescence de la fièvre qui était tombée à 38°. Puis apparition rapide de ballonnement abdominal avec douleurs très vives et légère ascite. On craint une péritonite généralisée, rapide. Puis tout s'atténue.

Pas d'expectoration. Crachats examinés au début de la maladie. Depuis ne crache pas.

En somme évolution d'une pleurésie anormalement chronique ayant duré plusieurs mois. Ponction en décembre puis en février, avec remplacement par de l'Azote.

Pouvoir bactéricide : 17 janvier 1926 = 2.

5 mars 1926 = 8.

2° OBS. FOUG... Salle St-Jean (Prof. P. Courmont).

Tuberculose pulmonaire torpide ayant débuté en *novembre 1925*. Apparition d'une pleurésie séro-fibrineuse secondaire à début latent en *mars 1926*.

La cytologie montre une lymphocytose abondante.

En avril 1926, la pleurésie persiste. Le poumon opposé demeure entièrement sain.

Le malade crache très peu, mais l'expectoration contient du bacille de Koch.

Le poids s'est amélioré de 2 kilogs à la sortie, où le malade part non guéri mais amélioré, apyrétique et en très bon état (*avril 1926*).

Pouvoir bactéricide : Le 4 mars 1926 = 8.

3° OBS. BAUDR... Salle Chavanne (Docteur Savy).

Pleurésie séro-fibrineuse ayant évolué de manière excellente.

Cytologie : lymphocytose abondante. Pas de B. K.

L'expectoration est nulle.

Malade sort de l'hôpital guérie.

Pouvoir bactéricide : Le 4 juin 1925 = 4.

**B. — Pleurésies séro-fibrineuses à pouvoir
bactéricide moyen**

4° OBS. VID... Salle St-Jean (Prof. P. Courmont).

Pleurésie séro-fibrineuse, 29 novembre 1925.

La cytologie montre une lymphocytose abondante et pas de B. K. (le 1^{er} et le 15 décembre).

Il n'y a pas de Bacille de Koch dans l'expectoration.

Le malade sort le 29 janvier 1926 ayant conservé un léger épanchement à la base.

Son poids s'est amélioré de 3 kilogs.

Pouvoir bactéricide : 1^{er} déc. 1925 = 2.

15 déc. 1925 = 2.

11 janv. 1926 = 2.

5° OBS. MIGL... Salle St-Augustin (Prof. Bard).

Pleurésie séro-fibrineuse à gros épanchement le 2 mars 1925. La cytologie montre une lymphocytose abondante.

Le 3 avril 1925, l'épanchement paraît résorbé.

La fièvre a disparu.

Pas de B. K. dans les crachats.

Sort guéri le 7 avril.

Le malade revu récemment avait mené depuis sa pleurésie une vie normale, travaillant en plein air d'un métier pénible.

Pouvoir bactéricide : le 20 mars 1925 = 2.

6° OBS. ROB... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Pleurésie séro-fibrineuse à début brusque, le 12 janvier 1926.

Cytologie : nombreux lymphocytes.

Pas de B. K. dans les crachats.

Résorption complète le 23 février 1926, le malade ne conservant que quelques râles congestifs à la base.

Sort guéri en avril ayant repris 4 kilogs de poids.

Pouvoir bactéricide : 16 janvier 1926 = 2.

7° OBS. CHASS... Salle Ste-Marie (Prof. Cade).

Pleurésie séro-fibrineuse droite ayant débuté en décembre 1924 (contagion familiale).

Cytologie : lymphocytose.

Evolution fébrile une semaine. Demeure ensuite apyrétique.

Pas de B. K. dans l'expectoration.

Sort guérie.

Pouvoir bactéricide : 17 mars 1925 = 2.

C. — *Pleurésies séro-fibrineuses à pouvoir bactéricide faible*

8° OBS. KOC... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Tuberculose pulmonaire bi-latérale avec présence de bacilles de Koch dans les crachats.

Pleurésie secondaire en février 1926. Moritz-Weiss +.

Cytologie : pleurésie histologiquement hémorragique. Lymphocytose abondante.

La pleurésie ne se résorbe pas. Le malade est actuellement un tuberculeux très évolutif. Etat grave.

Pouvoir bactéricide : 4 mars 1926 = 1.

9° OBS. MERC... Salle J. Courmont (Docteur Savy).

Pleurésie séro-fibrineuse. Fièvre oscillante à 39° et 40° pendant plus d'un mois. Amaigrissement et anémie considérables. Diminution de la température sans retour à l'apyrexie complète. Résorption incomplète de la pleurésie, le malade conservant de la matité à la base et des râles de congestion sur toute la hauteur du poumon.

Le malade, qui est un Arabe, sort volontairement non guéri et en mauvais état : amaigri, anémié et fébrile.

Pouvoir bactéricide = 1.

II. — Hydro-Pneumothorax tuberculeux

A. — *Hydro-Pneumothorax à pouvoir bactéricide fort*

10° OBS. HEUCL... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Début en *février* 1924 : tuberculose pulmonaire fibro-caséuse ulcérée du tiers supérieur du poumon droit avec râles fins jusqu'à la base. Forlanini le 1^{er} *avril* 1924.

L'amaigrissement continue. Pleurésie séreuse en *mai* 1924.

Cytologie : lymphocytes et polynucléaires. Présence de Bacilles de Koch.

En *février* 1925, la ponction montre un épanchement pyoïde, mais on ne trouve plus de bacilles de Koch.

En *août* 1925, le malade a engraisé de 4 kgs.

En *septembre* 1925, rupture pulmonaire et vomique de pus verdâtre. A partir de ce moment, le malade maigrit progressivement et meurt le 28 *septembre*.

Pouvoir bactéricide : *février* 1925 = 8.

Remarque : Malgré la mauvaise évolution de ce malade, il est à remarquer qu'entre la période où a été recherché le pouvoir bactéricide (*février*) et le moment où s'est produit la rupture pulmonaire (*septembre*) le malade avait repris du poids, et le bacille de Koch avait disparu du liquide pleural, alors qu'il y avait été trouvé à deux reprises en *sept.* 1924 et en *novembre* 1924.

11° OBS. FERR... Salle Président-Carnot (Prof. Gourmont).

Début en *février* 1925 par une hémoptysie. Tuberculose pulmonaire unilatérale du poumon droit. Anémie et mauvaise nutrition. Forlanini le 29 *juillet* 1925. Etat stationnaire.

Rougeole en *novembre* 1925. Pleurésie séreuse 17 jours après.

Cytologie : quelques lymphocytes et quelques polynucléaires. Pas de bacilles de Koch, mais l'inoculation au cobaye provoque une tuberculose virulente.

Tuberculisatation du poumon sain. De décembre 1925 à février 1926, le poids demeure stationnaire, puis l'état général décline. Décès.

Pouvoir bactéricide : *Novembre* 1925 = 4.

12° OBS. REY Rê... Salle P.-Carnot (Prof. Courmont).

Septembre 1925 : tuberculose pulmonaire fibro-caséreuse ulcérée du sommet gauche.

Le 23 *sept.* 1925 : Forlanini.

17 *nov.* 1925 : pleurésie séreuse contenant de nombreux bacilles de Koch.

En *mai* 1926 : l'épanchement n'est pas encore résorbé. L'état général de la malade est demeuré bon.

Pouvoir bactéricide : 27 *décembre* 1925 = 4.

13° OBS. VEL... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Tuberculose ulcérée du poumon gauche ayant débuté en août 1923.

Septembre 1924 : Forlanini, mais perte de poids progressive de 8 kgs jusqu'en *janvier* 1925 où apparaît une pleurésie séreuse.

Cytologie : polynucléaires dégénérés. Pas de Bacilles de Koch. L'inoculation au cobaye provoque une tuberculose virulente.

Le malade part en Albanie en *avril* 1925 dans un état précaire.

Pouvoir bactéricide : 20 *janvier* 1925 = 2.

7 *février* 1925 = 4,

14° OBS. COLLI... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Tuberculose fibro-caséuse du sommet droit avec sommet gauche suspect.

Forlanini le 1^{er} octobre 1925.

En février 1926, apparaît une pleurésie séreuse.

En mai 1926, on constate que le liquide se résorbe assez facilement. Le malade est fébrile.

Les lésions apicales du sommet gauche restent en évolution.

Cytologie : assez nombreux lymphocytes, quelques cellules épithéliales et polynucléaires. Absence de bacilles de Koch.

Pouvoir bactéricide : 20 avril 1926 = 8.

15° OBS. DUP... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Tuberculose pulmonaire à évolution unilatérale et rapide chez un adolescent de 15 ans.

Forlanini le 4 nov. 1924.

Amélioration de l'état général : augmentation de poids.

Octobre 1925 : apparition d'une pleurésie séreuse.

Cytologie : très rares lymphocytes, quelques polynucléaires. Pas de bacilles de Koch. Depuis, état stationnaire.

Pouvoir bactéricide : 9 mars 1926 = 8.

16° OBS. NAV... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Tuberculose pulmonaire ayant débuté en juin 1925. Forme unilatérale. Le malade refuse le Forlanini. Pneumothorax spontané le 15 janvier 1925. La fistule se ferme, mais apparaît une pleurésie séreuse très abondante. Ce malade est actuellement en excellent état. Un examen de crachats pratiqué en mai 1926 n'a pas montré de bacilles de Koch.

Pouvoir bactéricide : 27 mars 1926 = 8.

B. — *Hydro-Pneumothorax à pouvoir
bactéricide moyen*

17° OBS. BER... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Début apparent en *décembre* 1923. Tuberculose fibro-caséuse unilatérale du poumon gauche. Forlanini en *septembre* 1924 qui donne d'excellents résultats. Pendant toute l'année 1925, ce malade n'a plus de fièvre; l'expectoration a beaucoup diminué, surtout le poids augmente de 5 kgs. Entre temps, apparition d'une pleurésie séreuse en *mars* 1925. Depuis *déc.* 1925, aggravation nouvelle. L'expectoration devient abondante. Le malade maigrit beaucoup.

Cytologie de l'épanchement : en *juin* 1925 : polynucléaires dégénérés et rares bacilles de Koch. En *janvier* 1926 : polynucléaires dégénérés, mais on ne retrouve pas le bacille de Koch.

Pouvoir bactéricide : 9 *juin* 1925 = 2.

Remarque : Malgré l'aggravation ultérieure, de *juin* 1925 où a été cherché le pouvoir bactéricide, jusqu'en *novembre* 1925, le malade a engraisé de 3 kgs.

18° OBS. GRAND... Salle St-Jean (Prof. Courmont).

Points de côté depuis deux ans. Pseudo-rumatisme articulaire en *février* 1925.

Tuberculose pulmonaire unilatérale gauche en *mars* 1925. Il s'agit d'une broncho-pneumonie très évolutive, chez un adolescent de 18 ans.

4 *avril* 1925 : Forlanini. Apparition ultérieure d'une pleurésie séreuse. Etat général satisfaisant.

Pouvoir bactéricide : 28 *sept.* 1925 = 2.

13 *janvier* 1926 = 2.

19° OBS. BEUN... Salle Président-Carnot (Prof. Courmont).

Tuberculose fibro-caséuse du poumon gauche avec fièvre élevée.

5 mai 1925 : Forlanini. Amélioration progressive de la fièvre qui ne dépasse pas 38°, mais le poids reste stationnaire. 11 sept. 1925 : pleurésie séreuse.

Cytologie : lymphocytose abondante, quelques polynucléaires et quelques cellules endothéliales. Pas de bacilles de Koch, mais l'inoculation au cobaye provoque une tuberculose généralisée.

Avril 1926 : le poids demeure stationnaire. La malade tousse et crache beaucoup. Elle est redevenue fébrile et a perdu l'appétit.

Pouvoir bactéricide : 18 sept. 1925 = 2.

20° OBS. MED... (Prof. Courmon)t.

Pleurésie séro-fibrineuse du côté droit avec lobe inférieur adhérent. Processus broncho-pneumonique tuberculeux. Etat général grave, fièvre élevée.

Pneumo séreuse qui amène une amélioration rapide de l'état général et l'apyrexie. Il persiste longtemps un foyer de râles fins sous le sein droit, alors que le poumon s'est recollé et qu'il y a résorption du liquide et de l'azote.

Actuellement, l'état général est excellent. Le malade ne tousse et ne crache plus. Evolution d'un fibro-thorax avec aplatissement du côté droit.

Remarque : Il ne s'agit pas d'un hydro-pneumothorax vrai, mais d'une pneumoséreuse. Nous ne l'avons pas rangé cependant parmi les pleurésies séro-fibrineuses, car l'étude du pouvoir bactéricide a été faite après les injections d'azote, alors que le liquide avait pris un caractère séreux.

Pouvoir bactéricide : 14 février 1925 = 2.

21° OBS. DEL... Salle Prés.-Carnot (Prof. Courmont).

Juillet 1923 : tuberculose pulmonaire unilatérale avec ramollissement du sommet droit.

19 août 1924 : Forlanini. 29 oct. 1923 : apparition du liquide.

Cytologie : Déc. 1925 : lymphocytes et polynucléaires peu nombreux. Pas de bacilles de Koch, mais l'inoculation au cobaye provoque une tuberculose généralisée.

Le liquide paraît actuellement en état de régression. La malade est en excellent état, et a engraisé de 8 kgs depuis le début du traitement.

Pouvoir bactéricide : 19 décembre 1925 = 2.

22° OBS. ROSS... Salle Président-Carnot (Prof. Courmont).

Avril 1923 : Pneumonie caséuse du lobe supérieur gauche. 20 avril 1923 : Forlanini.

11 février 1925 : la malade revient d'Hauteville avec un épanchement pyoïde. Actuellement son état général est excellent, bien que l'épanchement persiste; elle n'a pas de fièvre, ne tousse pas et ne crache pas.

Depuis le début du traitement, l'amélioration est progressive, la malade a engraisé de 16 kgs.

Pouvoir bactéricide : 19 décembre 1925 = 2.

23° OBS. COLL... (Prof. Courmont).

Tuberculose fibro-caséuse du lobe supérieur à tendance très évolutive. Forlanini qui provoque une amélioration lente. Pleurésie séreuse qui se résorbe ultérieurement avec soudure de la plèvre. Actuellement état stationnaire, mais mauvaise nutrition.

Pouvoir bactéricide : 14 février 1925 = 2.

C. — *Hydro-Pneumothorax à pouvoir bactéricide faible*

24° OBS. FARG... Salle Président-Carnot (Prof. Courmont).

9 juin 1924 : Grossesse et accouchement. Pendant la grossesse a eu de la bronchite. Après l'accouchement se porte bien pendant 15 jours. Puis aggravation brusque.

7 octobre 1924 : A une infiltration fibro-caséuse du tiers supérieur du poumon gauche.

10 novembre 1924 : Forlanini.

27 février 1925 : Pleurésie séreuse.

Juillet 1925 : Le liquide est pyoïde couleur absinthe et donne un dépôt purulent.

8 juillet 1925 (Date à laquelle est recherché le pouvoir bactéricide) : La malade paraît aller bien. Elle a engraisé de 4 kgs. Elle ne crache presque plus.

12 décembre 1925 : Ablation de liquide et oléothorax.

15 décembre 1925 : Gonflement du sein. Pyopneumo-mamelle.

Fistulisation cutanée multiple. Actuellement fistules non fermées.

Fièvre quotidienne. Amaigrissement (6 kgs depuis le mois de janvier).

Pouvoir bactéricide : 8 juillet 1925 = 1.

III. — Pleurésies cardiaques

25° OBS. BERTH... Salle St-Augustin (Prof. Bard).

Néphrite et hypertrophie du cœur. Asystolie. Epanchement de la base gauche.

Cytologie : Cellules endothéliales isolées ou en placards. Quelques rares lymphocytes.

Pouvoir bactéricide = 0.

26° PLEURESIE CARD. S... Salle J.-Courmont (Doct. Savy).

Hypertrophie du cœur sans lésion rénale.

Asystolie. Hydrothorax double.

Pouvoir bactéricide = 0.

27° OBS. GAB... Salle Chavanne (Doct. Savy).

Insuffisance aortique syphilitique. Asystolie. Pleurésie cardiaque.

Pouvoir bactéricide = 0.

II. — Remarques cliniques tirées des observations

Les indications cliniques que peut fournir la recherche du pouvoir bactéricide sont d'ordre diagnostique et pronostic.

A) VALEUR DIAGNOSTIQUE

Il ressort de nos observations que la recherche du pouvoir bactéricide des pleurésies tuberculeuses peut permettre de confirmer le diagnostic de tuberculose.

Sur 9 cas de pleurésies séro-fibrineuses tuberculeuses, 7 présentaient un pouvoir bactéricide égal ou supérieur à 2. Deux autres présentaient un pouvoir bactéricide égal à 1, mais il s'agissait de pleurésies tuberculeuses secondaires chez des tuberculeux. Sur 15 cas d'hydro-pneumothorax tuberculeux, 14 ont présenté un pouvoir bactéricide égal ou supérieur à 2. Un seul avait un pouvoir bactéricide égal à 1. Les 3 cas de pleurésies cardiaques que nous avons étudiés, avaient toutes un pouvoir bactéricide égal à 0.

Cette statistique montre donc que l'existence d'un pouvoir bactéricide de 2 ou même de 1, dans une pleurésie est jusqu'à plus ample informé, fortement en faveur de la nature tuberculeuse de cette pleurésie. Nous ne pouvons pas en dire plus, attendu que l'étude ultérieure d'un plus grand nombre de pleurésies cardiaques peut seule montrer si cette règle peut être considérée comme absolue, ou comporte au contraire des exceptions.

B) VALEUR PRONOSTIQUE

Peut-on par la recherche du pouvoir bactéricide d'un épanchement, trouver des indications, au point de vue local et au point de vue général, sur l'évolution ultérieure de la maladie ? L'étude du pouvoir bactéricide peut-elle permettre de dire si l'épanchement se résorbera ou passera à la chronicité ? Peut-elle permettre de dire quelle sera l'évolution de la tuberculose pulmonaire ? Le problème est en réalité infiniment complexe. La défense de la plèvre ne constitue pas le seul élément de la défense de l'organisme. L'évolution de la pleurésie ne se fait pas seulement, d'après les réactions humores plus ou moins fortes à l'égard du bacille tuberculeux, mais elle est encore soumise à des facteurs que nous pourrions appeler anatomiques. Sous cette plèvre tuberculisée existe souvent une tuberculose pulmonaire plus ou moins évolutive. L'évolution de cette tuberculose pulmonaire, sera la plupart du temps prédominante et amènera la bonne ou mauvaise évolution de l'épanchement pleural. C'est ainsi que pour prendre un exemple, une pleurésie séreuse au cours d'un Forlanini, qui aurait tendance à se résorber rapidement, sera fortement aggravée par l'ouverture d'une caverne dans la plèvre. L'état anatomique du poumon a une telle importance dans l'évolution des épanchements pleuraux, quelle qu'en soit la nature, qu'il est a priori inadmissible qu'on essaye d'établir un pronostic général basé sur une simple réaction humorale pratiquée dans le liquide de l'épanchement.

Ces réserves étant faites, il est bien évident que la défense plus ou moins vive que la plèvre oppose au bacille tuberculeux ne doit pas être indifférente pour l'évolution ultérieure. C'est pourquoi, ainsi que l'a dit notre maître, M. P. Courmont, parlant de la séro-agglutination, « les réactions humorales constituent seulement un des éléments du pronostic qui doit être basé sur un faisceau de faits. »

Quelle importance doit être accordée au pouvoir bactéricide en tant qu'élément du pronostic des pleurésies tuberculeuses ?

Cette étude ne peut être basée, en raison même de la complexité des faits sur un nombre limité d'observations, tel que celui que nous apportons aujourd'hui. Il faut établir une statistique nombreuse comparable à celle qui a servi à M. Courmont (1) à établir la valeur pronostique de la séro-agglutination, dans la pleurésie séro-fibrineuse. Les quelques observations que nous avons groupées nous permettent seulement de mettre en évidence quelques points intéressants sur la valeur que l'on peut accorder actuellement au point de vue pronostic, à la recherche du pouvoir bactéricide des épanchements tuberculeux.

1° PLEURESIES SERO-FIBRINEUSES

L'existence d'un pouvoir bactéricide élevé ou moyen ne prouve pas que la pleurésie n'est pas

(1) P. COURMONT, « Séro-pronostic des pleurésies tuberculeuses », *Presse Médicale*, 8 nov. 1900.

P. COURMONT, « Valeur sémiologique de la réaction agglutinante chez les tuberculeux », *Congrès pour l'avancement des Sciences*, Lyon, 1906.

accompagnée de lésions pulmonaires. Par contre, l'existence d'un pouvoir bactéricide inférieur à 2, n'a été observé que dans 2 cas de pleurésies séro-fibrineuses secondaires d'évolution grave.

Il semble donc que si la recherche du pouvoir bactéricide ne permet pas de formuler un pronostic forcément favorable, elle a une valeur négative plus considérable et qu'un pouvoir bactéricide inférieur à 2 doit faire fortement soupçonner l'existence de lésions parenchymateuses évolutives.

C'est dans la pleurésie séro-fibrineuse que l'étude du pouvoir bactéricide nous paraît devoir donner ses indications les plus nettes. C'est, en effet, la pleurésie séro-fibrineuse qui constitue le problème le plus simple, c'est une maladie de la séreuse, accompagnée ou non de lésions pulmonaires sous-jacentes. Le pronostic à court terme est surtout basé sur le dépistage de l'évolutivité de ces lésions pulmonaires.

2° HYDRO-PNEUMOTHORAX TUBERCULEUX

L'hydro-pneumothorax, au cours d'un Forlanini ou d'un pneumothorax spontané, constitue au contraire, un problème clinique complexe. Il existe nécessairement des lésions parenchymateuses et c'est surtout ces lésions qui paraissent commander le pronostic.

C'est pourquoi, l'existence dans l'épanchement pleural, d'un pouvoir bactéricide élevé, ne permet pas de formuler un pronostic nécessairement favorable, ni au point de vue général, ni au point de vue de l'épanchement lui-même. Il constitue seulement une indication de la défense opposée à l'action microbienne.

il est une raison d'espoir, il n'est rien moins qu'une certitude.

Par contre, ici encore, la recherche du pouvoir bactéricide paraît avoir une valeur négative indiscutable. Sur 15 observations, nous n'avons trouvé ce pouvoir bactéricide faible que dans un cas qui a été suivi de fistulisation de l'épanchement et d'aggravation très marquée. La valeur pronostique des indications fournies par la recherche du pouvoir bactéricide était d'autant plus méritoire qu'elles ont été données à un moment où la malade paraissait en bonne voie de guérison et s'est cependant aggravé assez peu de temps après.

En somme, il ressort de cette étude clinique que la recherche du pouvoir bactéricide dans les épanchements pleuraux possède une plus grande valeur dans les pleurésies séro-fibrineuses que dans les hydro-pneumothorax; mais il ressort surtout que l'existence d'un pouvoir bactéricide élevé a moins de valeur pronostique que l'existence d'un pouvoir bactéricide faible dont la signification dans tous les cas paraît être fâcheuse.

Conclusions

I. — Les propriétés bactéricides des pleurésies séro-fibrineuses à l'égard des cultures homogènes de bacille de Koch ont été observées dès 1898 par P. Courmont. Nous avons poursuivi leur étude et nous l'avons étendue aux liquides des hydro-pneumothorax, non encore expérimentés à ce point de vue.

II. — Le liquide des pleurésies séro-fibrineuses et celui des hydro-pneumothorax tuberculeux a une action bactéricide sur les cultures homogènes de Bacille de Koch.

III. — Cette action se manifeste différemment selon la quantité de bacilleensemencée en bouillon glycérociné en présence d'une dose déterminée de liquide pleural.

a) 0 cc. 5 de L. Pl. Tub. arrête définitivement la culture de 2.000 bacilles de Koch, les germes étant vraisemblablement tués.

b) 0 cc. 5 de L. Pl. Tub. retarde plusieurs jours la culture de 10.000 à 5.000.000 de Bacilles de Koch. Ce retard est en raison inverse du nombre de bacillesensemencés.

c) 0 cc. 5 de L. Pl. Tub. n'a plus d'action évidente quand on le fait agir sur un nombre de bacilles supérieur à 5.000.000.

IV. — 0 cc. 5 de L. Pl. Tub. ne peut faire disparaître définitivement la végétation de 2.000 bacilles qu'après 7 jours de contact.

V. — La méthode des plaques ne peut servir pour la mesure du pouvoir bactéricide des pleurésies tuberculeuses. Nous avons étudié une technique tout à fait différente qui permet de classer pratiquement un épanchement tuberculeux en :

fortement bactéricide,
moyennement bactéricide,
faiblement bactéricide.

VI. — L'action bactéricide n'est pas affaiblie :

a) Par la dilution du liquide pleural en eau peptonée glycinée. Nous avons expérimenté jusqu'à la dilution à 1 p. 6.

b) Par le chauffage entre $+ 56^{\circ}$ et $+ 60^{\circ}$ une demi-heure.

VII. — L'action bactéricide du liquide pleural est diminuée, mais n'est pas supprimée :

a) Par le vieillissement (expérimentation sur 1 mois et 8 mois).

b) Par la filtration au moyen des bougies chamberland L. III et L. V.

VIII. — L'action bactéricide ne se produit plus dans les liquides pleuraux où le Bacille de Koch a été préalablement cultivé. Le pouvoir bactéricide semble être saturé.

IX. — Le fort pouvoir bactéricide d'un liquide pleural coïncide souvent avec un pouvoir agglutinant fort et une déviation du complément en présence de l'antigène tuberculeux atteignant un taux élevé.

Par contre, un épanchement qui agglutine faiblement le bacille de Koch peut avoir un pouvoir bactéricide élevé.

X. — Il ressort de nos observations au point de vue clinique :

a) Que le pouvoir bactéricide des pleurésies chez les cardiaques est en général faible. Cette règle comporte des exceptions très rares.

b) Que le pouvoir bactéricide des épanchements tuberculeux (pleurésies séro-fibrineuses et hydro-pneumothorax) peut être fort sans que l'on puisse en tirer des conclusions nécessairement favorables.

c) Un pouvoir bactéricide faible dans le liquide pleural d'un épanchement tuberculeux est d'un pronostic fâcheux dans les pleurésies séro-fibrineuses et les hydro-pneumothorax.

XI. — Il va sans dire que nos expériences ne sont valables dans tous leurs détails que dans les conditions où nous nous sommes placés et notamment en utilisant les cultures homogènes de Bacille de Koch A, employées depuis 1898 par S. Arloing et P. Courmont.

Vu : LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

LE DOYEN, PAUL COURMONT.

Pour le Doyen, l'Assesseur,

ROQUE.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 15 Mai 1926.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

J. GHEUSI.

TABLE DES MATIERES

PREMIERE PARTIE. — ETUDE DE L'ACTION BACTÉRI- CIDE DU LIQUIDE PLEURAL TUBERCULEUX SUR LES CULTURES HOMOGÈNES DE BACILLE DE KOCH....	13
<i>Introduction</i>	13
<i>Chapitre premier.</i> — Action bactéricide du liquide pleural sur les doses minima de bacilles tuber- culeux susceptibles de donner une culture....	17
<i>Chapitre II.</i> — Le pouvoir bactéricide du liquide pleural. Limites et modalités de son action sur les cultures (effets bactéricides — effets retar- dants)	28
<i>Chapitre III.</i> — Temps de contact nécessaire entre le liquide pleural et le bacille tuberculeux pour tuer ce bacille	40
DEUXIEME PARTIE. — MESURE DU POUVOIR BACTÉRI- CIDE	47
<i>Chapitre premier.</i> — Technique	47
<i>Chapitre II.</i> — Discussion de la technique utilisée.	56
<i>Chapitre III.</i> — Causes d'erreur (discussion).....	63
<i>Chapitre IV.</i> — Classement des résultats de mesure du pouvoir bactéricide des liquides pleuraux....	68
TROISIEME PARTIE. — ACTION DES AGENTS PHYSI- QUES, ET BIOLOGIQUES SUR LE POUVOIR BACTÉRICI- DE DES LIQUIDES PLEURAUX.....	77

<i>Introduction</i>	77
<i>Chapitre premier.</i> — Effet de la dilution sur l'activité du pouvoir bactéricide.....	80
<i>Chapitre II.</i> — Effet du vieillissement sur le pouvoir bactéricide	85
<i>Chapitre III.</i> — Effets du chauffage entre + 56° et + 60° sur le pouvoir bactéricide du liquide pleural	90
<i>Chapitre IV.</i> — Filtrabilité des substances bactéricides du liquide pleural.....	97
<i>Chapitre V.</i> — Saturation par la culture du B. K., du pouvoir bactéricide des épanchements pleuraux	102
<i>Chapitre VI.</i> — Rapport du pouvoir bactéricide d'un liquide pleural avec son pouvoir agglutinant et la réaction de déviation du complément	106
<i>Chapitre VII.</i> — Etude parallèle du pouvoir bactéricide à l'égard de 3 souches différentes (humaine et bovine)	113
 QUATRIEME PARTIE. — APPLICATION A LA CLINIQUE DE LA MESURE DU POUVOIR BACTÉRICIDE DES PLEURÉSIES TUBERCULEUSES	
<i>Observations</i>	117
1° Pleurésies séro-fibrineuses	117
2° Hydro-pneumothorax	121
3° Pleurésies cardiaques	127
<i>Remarques cliniques tirées des observations</i>	128
A) Valeur diagnostique	128
B) Valeur pronostique	129
 CONCLUSIONS.	 133



IMP. BOSC FRÈRES & RIOU

° 42, QUAI GAILLETON °

° ° ° ° ° LYON ° ° ° ° °



